

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

TECHNO NEWS

〈生研機構〉

ブレインテクノニュース

第94号

NOVEMBER 15, 2002

(黄緑花色品種)



(白地ピンク履輪花色品種)



F1 (秋試交1号) 黄緑地ピンク履輪花色新品種

両親の花色素分析により選抜交配した トルコギキョウの新花色品種の育成

秋田県農業試験場
野菜花き部

間藤正美・柴田 浩
佐藤孝夫・檜森靖則

目 次

総 説

- 日本産乾シイタケと中国産乾シイタケとの判別手法の開発 1
 時本景亮 (財団法人 日本きのこセンター菌茸研究所)

国内情報

- 米のDNA品種判別技術の開発-コシヒカリ判別用プライマーセットの開発- 5
 大坪研一・中村澄子 (独立行政法人 食品総合研究所)
- DNAマーカーによるイグサ品種「ひのみどり」の識別技術開発 10
 斎藤 彰¹・飯牟禮和彦²・奥泉久人³
 (独立行政法人 農業技術研究機構九州沖縄農業研究センター
²熊本県農業研究センター 農産園芸研究所
³独立行政法人 農業生物資源研究所分子遺伝研究グループ)
- 高純度の絹蛋白質セリシンを産生する蚕品種「セリシンホープ」の育成 14
 山本俊雄・宮島たか子・間瀬啓介・飯塚哲也 (独立行政法人 農業生物資源研究所)
- すり身排液からのDHA及びEPA含有油脂の新規回収法 18
 高橋力一 (銚子海洋医学研究所)
- 千葉県かん水抽出フルボ酸の水稲苗生育へ与える諸効果 22
 山田パリーダ・山口達明 (千葉工業大学工学部)

地域の先端研究

- 花色素分析を活用したトルコギキョウ新花色品種の育成 27
 間藤正美・柴田 浩・佐藤孝夫・檜森靖則 (秋田県農業試験場野菜・花き部)

文献情報

- ヒツジの子宮内膜におけるGM-CSF量の調節 31
 W. J. McGuire et al. (Domestic Animal Endocrinology, 23, 383-396, 2002)
 抄訳: 下司雅也 (独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所)
- 酵母における窒素制御 32
 B. Magasanik et al. (Gene, 290, 1-18, 2002)
 抄訳: 家藤治幸 (独立行政法人 酒類総合研究所)
- rhinはTGF- β によって誘導される尿細管上皮細胞の肥大や細胞外マトリックス産生を抑制する 33
 Guo X. H. et al. (Acta Pharmacol. Sin., 22, 934-938, 2001)
 抄訳: 織田浩司 (マルハ株式会社 中央研究所)

海外便り

- 反芻動物における脂肪組織分泌ホルモン (レプチン) に関する研究
 -西オーストラリア大学とCSIROでの1年間- 34
 角川博哉 (独立行政法人 農業技術研究機構 北海道農業研究センター)

表紙写真説明

トルコギキョウの黄緑花色後代で劣性ホモ遺伝子の個体を片親とし、白地ピンク履輪花色と交雑して得られたF1新品種 (秋試交1号)。花色素分析により、後代を見ずに組み合わせた雑種強勢で、新品種は、予想どおり、花色が黄緑地にピンクの履輪である。この技術の詳細については、本誌の地域の先端研究27~30頁をご覧ください。

◀総説▶

日本産乾シイタケと中国産乾シイタケ
との判別手法の開発

(財)日本きのこセンター菌茸研究所

時 本 景 亮

顕微鏡観察、物性調査、および元素分析により、中国産乾シイタケと日本産乾シイタケとを實用レベルで判別することが可能となった。また、シイタケ品種をDNA解析で判別する手法も開発され、これは中国産シイタケの品種が日本産品種と異なる状況下における確実な原産国判別手法となる。

1. はじめに

最近、食品の産地や製造法の表示が必ずしも正しくないことが問題となっている。乾シイタケにおいても、安価な中国産シイタケが日本産シイタケとして表示・販売されているのではとの疑いがある。消費者の信頼を保ち、日本産原木シイタケの生産を守るためには、中国産シイタケと日本産シイタケとを判別する手法の開発が不可欠である。(財)日本きのこセンターでは中国産シイタケと日本産シイタケとを形態、肉質および成分の分析によって判別する手法を「日本産・原木乾しいたけをすすめる会」の委託で開発した^{2)・3)}。一方、シイタケの品種を判別する手法も開発した^{1)・4)}。これは品種育成者の権利保護などに活用できる他、将来中国産シイタケの品種が日本産と異なる状況になれば、原産国の判別に利用できる。ここでは、これら2つの手法を紹介したい。

2. 形態、物性、および成分分析による原産国判別

(1) 柄の先端の顕微鏡調査

傘肉組織の構造には、原木栽培品と菌床栽培品とに明確な違いを見いだすことはできなかったが、原木栽培品の多くは柄の先端部に内樹皮の組織(スクレレンキマ)を内包して

TOKIMOTO Keisuke

〒689-1125 鳥取市古郡家211

いることを確認した。調査個体の約半数はこの顕微鏡調査で原木栽培品であるか菌床栽培品であるかを判別できた。

(2) 肉質の調査(水戻し特性と物性の調査)

日本産原木栽培品は中国産菌床栽培品に比較して、水戻し時の吸水による重量増加率(吸水後重量/吸水前重量)や傘肉肥大率(吸水後傘肉厚/吸水前傘肉厚)が大きかった。また、物性測定機を用いて、水戻し後のシイタケの傘に棒状の治具を挿入すると、日本産原木栽培品の方が治具挿入初期の弾性率が大きく、治具貫通に要するエネルギー(傘肉厚当たり)は小さかった(表1)。このことは、菌床栽培品と原木栽培品との菌触りの違いを示すものと思われる。

(3) 元素含量の測定

シイタケの傘肉の元素含量(12種類)を原子吸光分光光度計とプラズマ発光分析機を用いて測定した。なお、個体毎の分析を可能にするため、サンプルが少量で済む試料調整法を採用した。

菌床栽培品は原木栽培品よりも亜鉛(Zn)やカリウム(K)が多かった。中国と日本の原木栽培品間では、ナトリウム(Na)が日本産に多く、アルミニウム(Al)や鉄(Fe)は中国産で多い等の差異が認められた。このような元素含量の差異は、培養基質である菌床や原木の元素含量が影響していると思われた。

表1 水戻し時および水戻し後の子実体の物性比較 (平均±標準偏差)

	調査				
	個体数	傘径増加率	肉厚増加率	弾性率	貫通エネルギー/肉厚
日本原木	83	1.08 ± 0.07	1.54 ± 0.34	0.106 ± 0.029	3.95 ± 1.70
中国原木	33	1.16 ± 0.08	1.70 ± 0.47	0.107 ± 0.022	4.77 ± 2.06
中国菌床	86	1.10 ± 0.09	1.23 ± 0.31	0.094 ± 0.018	5.63 ± 3.70
有意差水準(p 値)					
日本原木:中国原木		0.000**	0.024*	0.850	0.155
日本原木:中国菌床		0.137	0.000**	0.001**	0.000**
中国原木:中国菌床		0.000**	0.000**	0.007**	0.135

水戻し時においては傘径の増加率、重量増加率および傘肉厚の増加率を、水戻し後の子実体については傘の弾性率 (N/mm², 荷重0.1—0.5N) と治具貫通に要するエネルギー (肉厚当たり, J/mm) を求めた

(4) 判別式の作成

以上の調査データを用いて判別分析を行い、判別関数式を求めた。

①「日本産原木栽培品」対「中国産菌床栽培品」

亜鉛など3種類の元素と傘肉肥大率の組み合わせで作成した判別式を図1に示す。測定データを判別式に当てはめ、その値がプラスであれば日本産原木栽培品、マイナスであれば中国産菌床栽培品と判別する。試験に用いた日本産サンプルは全てプラス、中国産サンプルの全てはマイナスとなり、判別の中率は100%であった。判別の精度を示すもう一つの尺度である誤判別率(判別を間違える確率)は4.1%であった。顕微鏡観察による判別を加味すれば、誤判別率は2%程度になる。

②「日本産原木栽培品」対「中国産原木栽培品」

アルミニウム、ナトリウムなど、6種類の元素の組み合わせによる判別式(図2)では用いたサンプルの94.0%が判別できた。誤判別率は10.9%であった。

③「中国産原木栽培品」対「中国産菌床栽培品」

亜鉛、アルミニウムなど7種類の元素のデータを用いた判別式では、判別の中率は100%であった。誤判別率も0.4%であり、極めて判別精度は高かった。顕微鏡観察を加味すれば、さらに判別精度は高くなる。

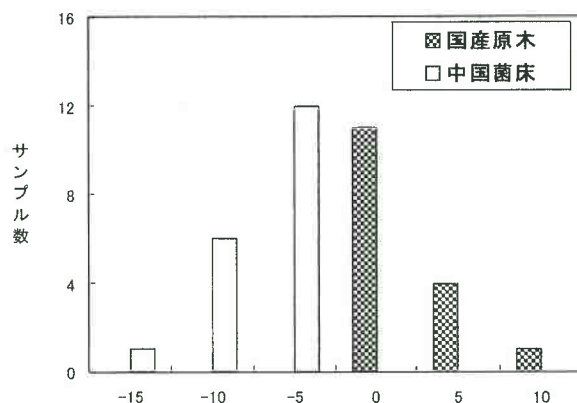


図1 日本産原木栽培品と中国産菌床栽培品との判別 (判別の中率100%, 誤判別率4.1%)

判別式の値がプラスならば日本産、マイナスならば中国産と判別する。

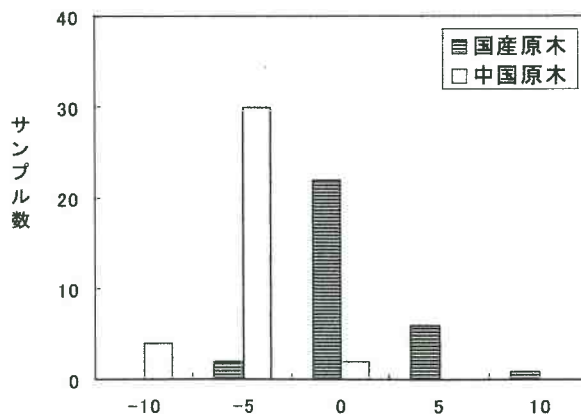


図2 日本産原木栽培品と中国産原木栽培品との判別 (判別の中率94.0%, 誤判別率10.9%)

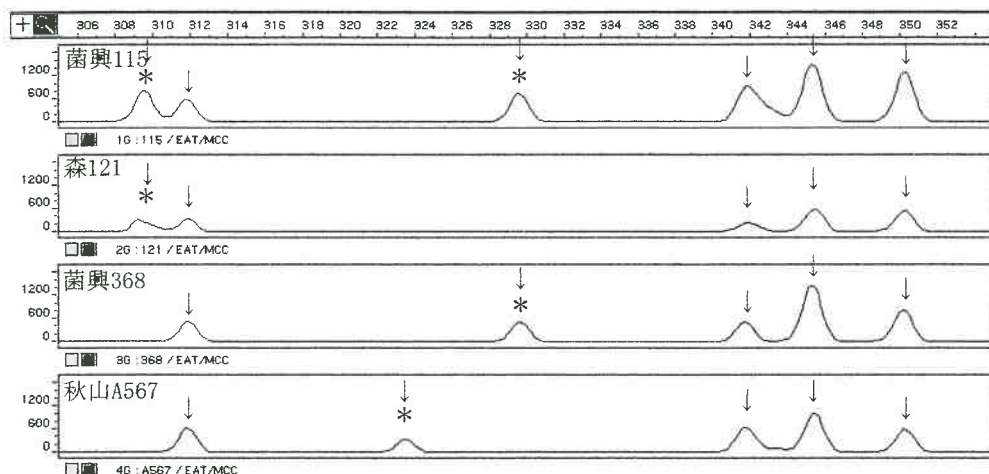


図3 DNA解析によるシタケの栽培品種の判別 (DNA指紋解析:AFLP解析)

3. DNA解析による品種判別

(1) DNA解析法の必要性

乾シタケの品種を判別する手法としては、子実体の形態的特性に加えて、交配型因子の解析、対峙培養およびアインザイム解析が利用されてきた。しかしながら、これらの方法では近縁な品種を判別できない場合や使用する菌糸体の生理的条件により結果が左右される場合がある。そこで、安定的で詳細な比較が期待できるDNA解析を利用した判別法を検討することになった。

ヒトにおいてはDNA解析を利用した個人の識別がいち早く可能となり、犯罪捜査に利用されている。シタケの品種においてもDNA鑑定が可能ではあるが、ヒトと同じ方法は適用できない。ヒトでは、個人個人でDNA配列の異なる領域が多数発見されているので、その領域のみを増幅し、検出することでDNA鑑定を行なうことができる。一方、シタケではDNA配列の解読が行われた部分ごく僅かであり、品種間で異なるDNA領域が特定されていない。したがって、既知のゲノムDNA情報が少なくても利用できる新たなDNA解析法が必要となる。既に幾つかの研究機関において品種判別のためのDNA解析が検討されてきたが、決定的な方法はまだ確立されていない。

(2) AFLP解析法による判別

DNA指紋解析の1手法である増幅断片長多型解析(以下、AFLP解析と記す)を用いてシタケの品種判別が試みられた。AFLP解析の方法は以下の通りである。まず、シタケの菌糸体や子実体からDNAを取りだし、酵素を利用して特定のDNA配列のところでDNAを短く断片化する。この段階ではそれぞれのDNA断片の量は少なく、検出できないので、PCRでそのDNA断片を選択的に増幅する。そして、増幅されたDNA断片を電気泳動し、レーザー光線を利用して検出するというものである。もとの品種のDNA配列が異なっていれば、増幅されるDNA断片の長さが違ってくるので、そのDNA断片の長さの違いを電気泳動を利用して検出するのである。DNAの増幅パターンが人の指紋のように個人個人で違っていることに例えて、DNA指紋解析とも呼ばれている。

図3に一例として4つの品種(菌興115, 森121, 菌興368, 秋山A567)のAFLP解析の電気泳動像の一部を示した。矢印の付いているピークが検出されたDNA断片である。品種間で差が見られたDNAのピークには*印を付した。この電気泳動像では右に行くほどDNAが長いことを示している。この図のピークパターンを用いるだけでも、この4品種が識別できることがわかる。日本の主要種菌メーカー7社(菌興, 森産業, 明治製菓,

秋山種菌，富士種菌，北研およびキッコウマン)の17品種を用いてAFLP解析を行ったところ，全部で304個のピークが再現性良く検出できた。そして，そのうち179個のピークで品種間の差があり，これらのピークで17品種中16品種の判別が可能であった。同一ピークパターンを示して判別ができなかった2つの品種は，品種登録制度が整備される以前に販売されていた品種であり，交配型因子も一致したことから，一方の品種は他方の品種から菌糸体を分離培養したもの（いわゆるコピー品種）である可能性が高い。以上のように，AFLP解析を用いると従来のDNA解析法に比べて，品種間で差のあるDNA領域を再現性良く解析できることが明らかになった。

図3は純粋培養した菌糸体を用いた結果であるが，生シイタケや乾シイタケでも安定的にAFLP解析ができることが確認されている。本手法は市販のシイタケの品種を高い確率で特定できるので，中国産シイタケと日本産シイタケとを判別する有力な手段に成り得る。

4. まとめ

(1) 顕微鏡観察，物性調査，および元素分析を行うことにより，日本産原木栽培シイタケは，中国産菌床栽培シイタケとは2%程度の誤判別率で，また，中国産の原木栽培シイタケとも10%前後の誤判別率で判別できることが明らかになった。この手法は個体毎の判別が可能である。

(2) 乾シイタケからDNAを抽出し，品種を判別する技術が開発された。中国で栽培されるシイタケ品種が日本の品種と異なる場合，この手法による判別は極めて有効である。

文 献

- 1) 寺島和寿 (2002), 菌草48 (1), 22-25
- 2) 時本ら (2000), 特願2000-302260
- 3) 時本ら (2002), 日本菌学会第46回大会講要集 (信州大) p.76
- 4) Terashima, K. et. al. (2002), *Mycol. Res.* 106, 34-39

◀国内情報▶

米のDNA品種判別技術の開発 —コシヒカリ判別用プライマーセットの開発—

独立行政法人 食品総合研究所
大坪 研一・中村 澄子

改正JAS法の施行により、米の包装には品種等の表示が義務づけられた。品種判別には交配稔実性、粒型判別、酵素多型等が用いられるが、米や米飯試料でも適用可能であり、近縁種での識別性が高いことからDNA判別技術の開発に取り組み、多数の品種で相互識別が可能となった。特に、作付けが多く、良食味米であるコシヒカリを対象に、混米検出用の「ネガキット」、確認用の「ポジキット」を開発し、試験販売が開始されている。

1. はじめに

近年、消費者の良食味指向が進み、コシヒカリ、ひとめぼれ、ヒノヒカリ、あきたこまち等の良食味米の生産が増加し、流通市場でも高い価格で取引きされている。平成7年に施行された食糧法のもとで、米の包装に品種、産地、産年を表示することになったが、平成13年4月からの改正JAS法の施行によってもこうした米の品種や産地の表示制度は、全ての米取扱業者に適用範囲を拡大して維持されることになっている。

以前は、稲や米の品種判別技術には、交配して稔るかどうかが基準に使われた。この交配稔実性を基にして、加藤茂苞ら日本人がインディカとジャポニカという分類を世界に先駆けて始めたわけである。次いで、松尾孝嶺がまとめた稲の草型、葉の位置や角度、穂や籾の形、葉色などのさまざまな特徴を総合して品種を識別する方法が開発された¹⁾。玄米のレベルでは、食糧庁の農産物検査官によって、粒形を中心に、外観上の様々な特徴に基づいて品種が判別されている。食総研の松永・田村らが開発した画像解析による粒形判別技術は、この方法を、機器によって客観化、迅速化したものである²⁾。また、稲の葉や種子中のエステラーゼやアマラーゼ等の酵素の多型（アイソザイムパターン）によっても稲

OTSUBO Kenichi, NAKAMURA Sumiko
〒305-864 つくば市観音台2-1-12

の品種判別が可能である。中川原らは、この方法によって、世界の各種の米を調査し、インディカ亜種も2つのグループに分類できることを見いだしたほか、稲の起源地についても考察を加えている³⁾。しかし、この方法では、近縁種の識別、例えば、コシヒカリとその子であるあきたこまちやひとめぼれを識別することは困難である。

一方、DNA判別技術は、米のゲノム遺伝子のわずかな構造上の相違をPCR（ポリメラーゼ・チェーン・リアクション：DNAの特定部分を、変性、結合、伸長の3つの反応の30～40サイクルの繰り返しによって10億倍～1兆倍程度に増加させる技術）やRFLP法（制限酵素断片長多型検出法）等によって識別するものである。われわれは、現在のところ、品種間差のみを検出して産地や貯蔵の影響を受けない識別プライマーを選定し、PCR法を用いて品種判別を行っている⁴⁾。PCR法では、様々な装置や条件で搗精された精米や、精米粉末、米飯や餅等にも適用できるという長所がある。

2. 米のDNA品種判別技術とは

DNA品種判別技術は、PCR法とRFLP法に大別される。PCR法は、試料DNAをPCRによって増幅する際の、プライマー（複製開始用DNA断片）の試料DNAへの結合部位における塩基配列の相違によって識別する。した

がって、PCRで増幅が可能な量の試料DNAがあれば適用可能であり、精米や米飯のように、デンプンやタンパク質などのDNA以外の成分を多く含み、抽出可能なDNA量が少ない場合に適している。PCR法の問題点としては、増幅装置や増幅条件によって結果が異なる場合がある点が挙げられる。PCR法の例としては、市販のランダムプライマーを用いるRAPD法、識別用DNAの塩基配列決定後にフォワード側およびリバース側からプライマーを設計するSTS化プライマーPCR法、品種に特徴的な反復配列を挟み込む形でプライマーを設計するマイクロサテライト法などが挙げられる。

一方、RFLP法は、試料DNAを様々な制限酵素（切断部位の構造が決まっているDNA分解酵素）によって切断し、試料DNAのDNA塩基配列の相違に基づく切断部位の相違によって切断されたDNAの長さが異なってくる（多型と呼ぶ）を利用した識別方法である。この方法は、PCR法に比べて多量の試料DNAを必要とするという問題はあるが、結果の再現性が高いこと、日本晴やカサラスのようなゲノム解析に用いられている基準的な品種では、制限酵素切断部位や、対象遺伝子の座乗染色体およびその位置に関する情報が蓄積されているという長所がある。

3. 幼苗、葉、精米等からのDNAの抽出と精製

精米粉からの代表的なDNA抽出法はCTAB（セチルトリメチルアンモニウムブロミド）法である。この方法は、デンプン、タンパク質、脂質等の夾雑物の多い穀類種子からのDNA抽出に適している⁵⁾。また、精米一粒からDNAを抽出して品種識別に用いる場合に、市販のDNA抽出キット（ニッポンジーン社製 ISOPLANTやBIO 101社製 FastDNA Kitなど）も使用可能である^{6, 7)}が、これらのキット法は、主として幼苗や葉からの抽出に適している。穀粉の場合には、

CTAB法が、穀粒一粒の試料の場合には、後述の酵素法⁸⁾が最も適している。

4. PCR法による国内産米の品種判別例

当研究室では、コシヒカリ、ひとめぼれ等、平成6年度の国内産作付け上位10品種を対象に、PCR法(RAPD法)による品種判別技術の検討を行い、8種類のランダムプライマーによる結果を総合することによって、上記10品種の識別を可能とする技術開発を行った⁵⁾。使用したランダムプライマーは、産地や貯蔵の影響が現れないものを選択して使用した。

5. 米飯一粒による品種判別技術

学校や会社における給食や、コンビニエンスストア等で販売されている持ち帰り弁当、冷凍米飯や無菌包装米飯などの加工米飯を含めた米飯市場は年間2兆円を超えるとされており、現在も市場が拡大しつつある。そこで、当研究室では、精米用に開発したDNA品種判別技術を、米飯の品種判別にも適用すべく検討を行った。精米に比べての米飯の場合に考えられる問題点は、①炊飯加熱を受けてDNAの一部が分解されており、抽出量が少ない、②炊飯によってデンプンが糊化しており、DNAの抽出を妨げる、③炊飯加熱によって変性したタンパク質がDNAの抽出を妨げる、④異なる品種を混合炊飯した場合に

米飯試料（1粒）

緩衝液中で粉碎
α-アミラーゼ処理（デンプンを分解）
（80℃、1時間）（DNA分解酵素失活）

プロテアーゼK処理（タンパク質を分解）
（55℃、1時間）

エタノール沈殿

フェノール抽出
PCI処理（DNAを精製）
70%エタノールで洗浄

鑄型DNAとしてPCRに使用

図1 炊飯米1粒からのDNA抽出・精製方法（酵素法）

DNAが溶出混合しないか?などの点であった。

そこで、従来から精米に用いているCTAB法、市販キット法、酵素法の3種類のDNA抽出・精製方法を10種類の品種に用いて比較を行った。その結果、抽出されるDNAの量と質の点で、酵素法が最も良好な結果を示した。当研究室で開発した酵素法の概要を図1に示す。酵素法のポイントは、耐熱性の α -アミラーゼを用いることによって、DNA分解酵素の作用を抑えながら糊化デンプンを分解除去し、次いで、SDS存在下で、プロテアーゼKによって変性タンパク質を分解除去し、DNAの抽出・精製を容易にする点である。また、「日本晴」と「コシヒカリ」の各精米粒に印を付けて単独炊飯および混合炊飯し、試料米飯のDNAを酵素法で抽出して調べた結果、混合炊飯した場合にもDNAが混じり合うことなく、それぞれの品種判別が可能であることを確かめた。これらの結果を踏まえ

て、使用プライマーを選択することにより、精米の場合と同様に、米飯一粒の場合にも、主要な品種の識別が可能になっている^{8, 9)}。

6. プライマーのSTS化

PCR法によるDNA品種判別では、簡便性の点から、従来はRAPD法が用いられてきた。しかし、RAPD法の場合には、使用プライマーごとに数種類のPCRおよび同数のアガロースゲル電気泳動を行うために、操作が煩雑となる。その上、多数の共通バンドの中から識別バンドを選定し、識別する必要がある。

上記の問題は、使用するプライマーをSTS(シーケンス・タグド・サイト)化することによって解決される。すなわち、①RAPD法を行い、有用な識別バンドを選定、②電気泳動ゲルの識別バンドからDNAを抽出、③当該DNAを大腸菌に組み込んでクローニング、④DNAの塩基配列を決定、⑤決定した

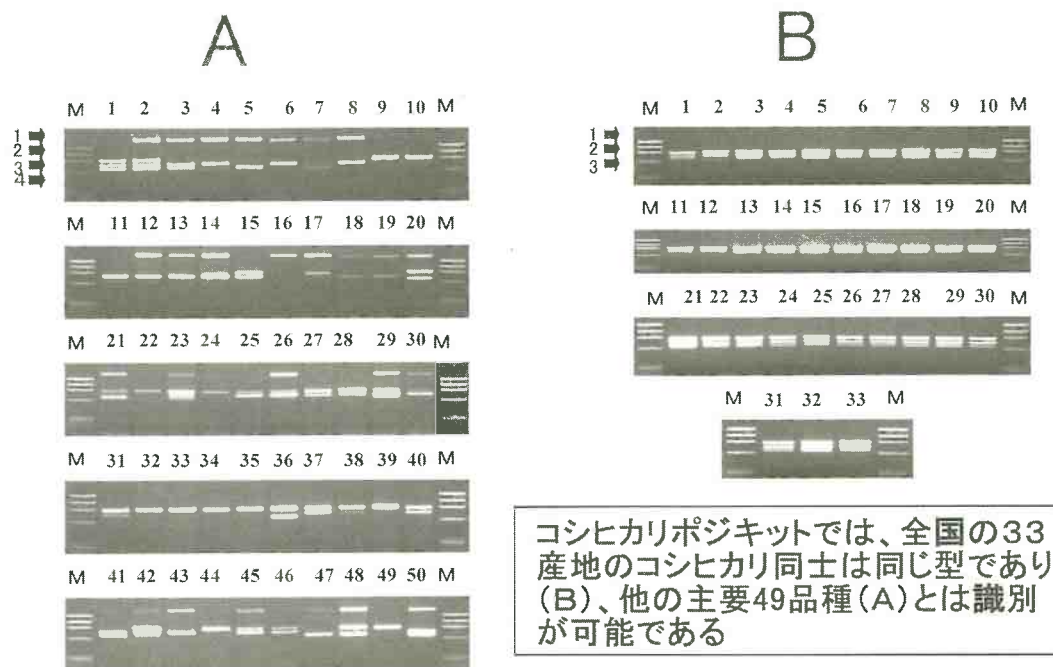
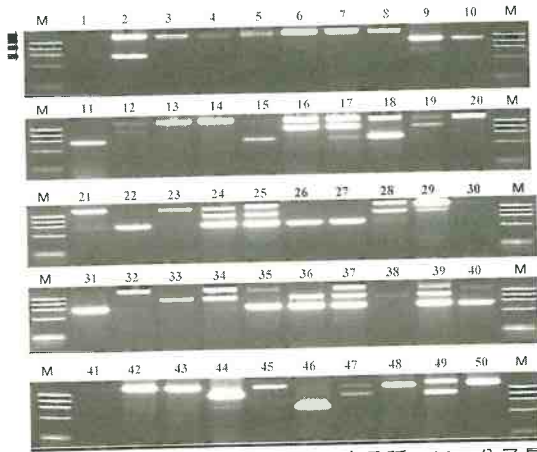


図2 コシヒカリ判別用のプライマーセットによる50品種の識別結果

M: 分子量マーカー 1: コシヒカリ 2: ひとめぼれ 3: ヒノヒカリ 4: あきたこまち
5: ぎらら397 6: キヌヒカリ 7: ほしのゆめ 8: はえぬぎ 9: むつほまれ 10: 日本晴
矢印は、配合した4種類のプライマーによる識別バンドの位置を示す。



1：コシヒカリ，2～50：多品種，M：分子量マーカー

図3 混米検出用のコシヒカリネガキット

1：コシヒカリ 2：ひとめぼれ 3：ヒノヒカリ 4：あきたこまち 5：きらら397 6：キヌヒカリ 7：ほしのゆめ 8：はえぬぎ 9：むつほまれ 10：日本晴 11：ササニシキ 12：つがるロマン 13：ハナエチゼン 14：夢つくし 15：ハツシモ 16：朝の光 17：月の光 18：あいちのかおり 19：祭り晴 20：あきほ 21：ゆきまる 22：むつかおり 23：まなむすめ 24：かけはし 25：キヨニシキ 26：どまんなか 27：越路早生 28：ゆぎの精 29：ほほの穂 30：ゆめあかり 31：能登ひかり 32：アキツホ 33：アケボノ 34：朝日 35：ヤマホウシ 36：ヤマヒカリ 37：黄金錦 38：コガネマサリ 39：レイホウ 40：ミネアサヒ 41：ふさおとめ 42：かりの舞 43：どんとこい 44：アキニシキ 45：ながのほまれ 46：フクヒカリ 47：ゴロビカリ 48：初星 49：中生新千本 50：森のくまさん

塩基配列に基づいて、両側から長いプライマーの対を新しく設計する。STS化プライマーの場合は、各品種共通の不要バンドが消失し、識別バンドのみが出現する。これによってRAPD法の問題とされていた再現性、識別誤認の問題が解決された。

当研究室では、これらの対合プライマーを設計し、複数のプライマーを同時に使用する「マルチプレックス法」を確立した¹⁰⁾。すなわち、1種類か2種類のPCRを行い、識別バンドのみがバーコードのように現れる電気泳動によって再現性よく品種識別を行うことが可能になったわけである。この「STS化マルチプレックス法」は、米飯試料の場合にも適用可能である¹¹⁾。

7. コシヒカリ判別用プライマーセットの開発

前述のSTS化プライマーによるマルチプレックス法をさらに実用的なものとするために、「コシヒカリ判別用プライマーセット」を開発した。コシヒカリは、その良食味性と広域栽培適応性から、全国の作付け面積の約36%を占めており、流通量も最も多い品種である。この場合、①プライマーセットの各プライマーがプライマーダイマーを構成したりして互いに干渉することなく、明確にそれぞれの識別バンドが現れること、②各県のコシヒカリ同士で相違が現れないこと、③ひとめぼれ、あきたこまち、ヒノヒカリ等の主要な近縁品種とも明瞭に識別ができること、の3つのポイントが重要であった。当研究室で開発したコシヒカリ判別用プライマー組み合わせの一例（ポジキット）を図2に示す¹²⁾。

純品の試料や1粒の試料を用いてコシヒカリであるかどうかを判別するにはこのポジキットが有用である。しかし、例えば図2の日本晴やむつほまれのよう、コシヒカリより識別バンド数の少ない品種を少量混合した場合には、コシヒカリの3本の識別バンドに隠れてしまって混米を検出することが困難となる。そこで、混米検出用のコシヒカリネガキットの開発を行った。この場合は、①全国のコシヒカリの原種で、識別バンドが全く現れない、②コシヒカリ以外の品種の場合には、何らかの識別バンドが出現する、という2点がポイントになった。各種のSTS化プライマーの組み合わせを検討した結果、図3に示すようなネガキットが開発された。これにより、5%以上の他品種米が混入した場合には1回のPCRと電気泳動で検出することが可能となった。

8. 餅を試料とする原料米の品種判別

餅の原料米においても炊飯用粳米の場合と同様に「コシヒカリ」に相当する「こがねもち」等の良質品種がある。原料米の品種判定

は、原料米の産地のみならず、餅製造企業、流通業界、消費者にとって重要である。DNA抽出方法を検討した結果、米飯用に開発した「酵素法」の条件を強化することによってPCRにかけるに十分な量と質のDNAの調製できることが明らかになった。PCR用プライマーは、これまでに開発した各種のSTS化プライマーを用いて適性を調べた結果、こがねもち、ヒヨクモチ、はくちょうもち、輸入糯米等の主要な糯米を識別できるプライマーが選定された¹³⁾。

9. 米のDNA品種判別技術の実用化

これまで述べてきた米の品種のDNA判別技術はすでにいろいろな場面で実用的に利用されるようになってきている。秋田県では自県産あきたこまちの品種保証を行っている。我々の方法とは若干異なるマイクロサテライト法¹⁴⁾もきわめて有用なDNA品種判別技術である。団体や企業による米の品種判別依頼分析も始まっている。また、食糧庁の米表示に関する調査事業や国民生活センターによる調査において、当研究室の開発した「米のDNA品種判別技術」や「コシヒカリ判別キット」が用いられている。

文 献

- 1) 松尾孝嶺：農業技術研究所研究報告，D3, 1-111, 1952.
- 2) 松永隆司・田村真八郎：食の科学，No 131, 60-71, 1980.
- 3) 中川原捷洋：稲と稲作のふるさと（古今書院，東京），p.72-91, 1985.
- 4) 大坪研一・藤井 剛・橋野陽一・豊島英親・岡留博司・中村澄子・川崎信二：食科工，44, 386-390, 1997.
- 5) 大坪研一・藤井 剛・橋野陽一・豊島英親・岡留博司・中村澄子・布施 隆・川崎信二：食科工，46, 117-122, 1999.
- 6) 大坪研一・吉橋 忠・中村澄子・川崎信二：育種学雑誌，47（別2），258, 1997.
- 7) 吉橋 忠・中村澄子・藤井 剛・川崎信二・大坪研一：食科工，46, 250-254, 1999.
- 8) 大坪研一・中村澄子・諸岡 宏・藤井剛・布施 隆・川崎信二：食科工，46, 262-267, 1999.
- 9) 大坪研一・中村澄子・豊島英親・岡留博司・川崎信二：日本特許第3048149号，2000年3月24日.
- 10) 大坪研一：食糧振興，No68, 4-15, 2000.
- 11) 大坪研一・與座宏一：精米工業，No183, 10-13, 2000.
- 12) 大坪研一・中村澄子・今村太郎：農化，76, 388-397, 2002.
- 13) 大坪研一・中村澄子・與座宏一・宍戸功一：食科工，48, 306-310, 2001.
- 14) 赤木宏守：育種学研究，2, 89-96, 2000.

◀国内情報▶

DNAマーカーによるイグサ品種「ひのみどり」の識別技術開発

¹独立行政法人 農業技術研究機構九州沖縄農業研究センター
²熊本県農業研究センター 農産園芸研究所
³独立行政法人 農業生物資源研究所 分子遺伝研究グループ
 斎藤 彰¹・飯牟禮 和彦²・奥泉 久人³

近年の輸入農産物の急増に対し平成13年4月23日から200日間、ネギ、生シイタケそれに畳表を対象にセーフガードが暫定発動された。このような状況下で、農林水産省の委託により農産物の産地と品種を判別する技術開発のための行政特別研究プロジェクトが平成13年度から3年間の計画で発足した。イグサに関してはDNAマーカーを利用した品種識別技術の確立を目的に、九州沖縄農業研究センターを中心として、農業生物資源研究所、近畿中国四国農業研究センター、それに熊本県農業研究センターの4場所がそれぞれ異なった手法を用いてイグサの品種識別を検討している。これまでに当センターとの共同により、農業生物資源研究所と熊本県農業研究センターで「ひのみどり」を識別するDNAマーカーを開発したので、その概略について紹介する。

1. はじめに

畳表等の原料となるイグサは、その製品の品質に関わる草丈、茎の太さ、着花の頻度、先端部分の枯れ程度、それに収量等を改良すべく育種が進められている(図1)。これらの特性は一定の栽培環境では品種を識別できる特徴となり、またそれらはゲノムDNA上の遺伝情報として後代に遺伝することが確認されている。しかし、栽培環境が大きく異なる条件で生育したものや入手経路が不確実なもの、それに泥染め・乾燥後加工されたものでは、それら外見上の品種特性に基づいて品種を識別することは非常に困難である。したがって、種苗法違反や農産物不当表示を防止・規制する科学的根拠について十分とはいえない現状である。

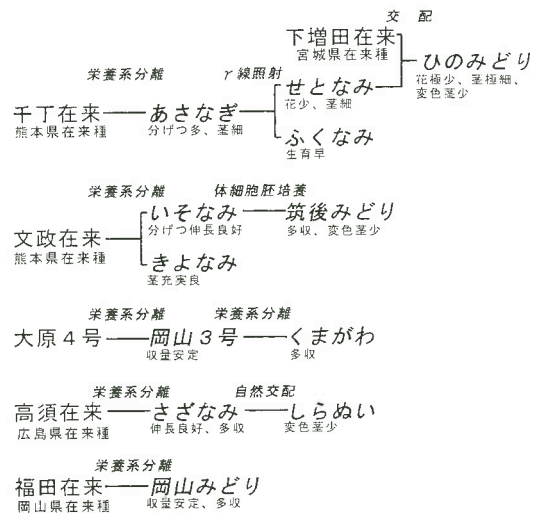


図1 主要イグサ品種の系譜

これに対して、生物の品種・個体識別にDNAマーカー(断片)を利用する方法は、その生物からゲノムDNAが抽出できさえすれば、それらが環境や栽培条件に影響されないため、高い確率で生物の(品)種や個体を識別できることが知られている。しかし図1で示すように、イグサでは栽培品種のほとんどが栄養系分離、 γ 線照射、組織培養の変異を利用して育成されており遺伝的変異が少なく、また、育種素材である在来種間でも遺伝的変異が少ないと考えられるので、品種間の変異を検索するためにはゲノムDNA上を広く

¹SAITO Akira
〒861-1192 熊本県菊池郡西合志町大字須屋2421
²IMURE Kazuhiko
〒861-1113 熊本県菊池郡合志町榮3801
³OKUIZUMI Hisato
〒305-8602 つくば市観音台2-1-2

範囲に扱い、また高精度の分析技術が要求される。

本稿で紹介する分析法は、いずれも広範囲なイグサゲノムDNAを検索したRAPD分析法、より高精度分析が可能なRLGS法である。なお、これらの分析法によるDNAマーカーを用いたイグサ品種識別に関する2件の特許が平成13年12月、14年3月に出願されている。

2. 「ひのみどり」について

「ひのみどり」は、熊本県農業研究センター一業研究所育種部(いぐさ育種指定試験地)で平成10年度に育成された品種で、茎が細く着花や色のムラが少ないので畳表にした場合、表面が滑らかで美しい状態に仕上がる。熊本の高級畳表ブランド「ひのさらさ」は、この品種を使った畳表であり高値で取り引きされている。

3. RAPD法による品種識別 (熊本県農業研究センター)

(1) RAPD法とは

PCR (Polymerase Chain Reaction) というDNAを増幅する技術を用いた方法で、この増幅には鋳型となるDNA、DNAの部品となる物質、DNAを合成する酵素とともにプライマーという短いDNAが必要である。このプライマーと相補的な塩基配列をもつ鋳型DNA部分間が増幅される。このプライマーの塩基配列を任意に変えることによって様々

な部分のDNAが増幅されるが、この増幅DNAから検出されるDNA多型をRAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) と呼んでいる。

(2) 識別法の概略 (図2)

まず、イグサのDNAを抽出した後PCR反応を行う。この際、プライマーの種類(塩基配列)によって、鋳型DNAの様々な部分が増幅される。品種が異なるとDNAの塩基配列に違いがあるため、同じプライマーを使っても品種間で増幅箇所(位置)に違いが現れる。この増幅箇所を電気泳動という方法によって、増幅DNAをその大きさによって分離する。DNAは電氣的にマイナスに帯電しているため、ゲル(寒天のよう膠化体)板の片方にPCR反応液を入れて、ゲルに電気を流すとDNAはプラス側に流れていく。このとき、大きいDNA産物はゲル内を通りにくいため移動速度が小さく、小さいDNA産物は逆に移動速度が大きい。したがって、最終的に大きいDNAは最初の位置から近く、小さいDNAは遠い位置になり、大きさによって分離することができる。

(3) 結果 (図3)

60種類のプライマーを用いた結果、それらの中の1種類のプライマーで「ひのみどり」と他の品種を識別することができた。図3では上から下に電気泳動でPCR産物を流したところ、横矢印の位置に「ひのみどり」にはなくて他の11品種にはあるバンドがあり、これ

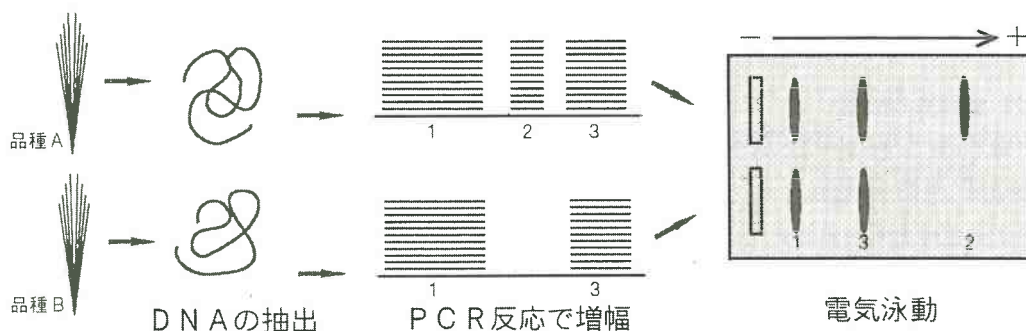


図2 識別法の概略

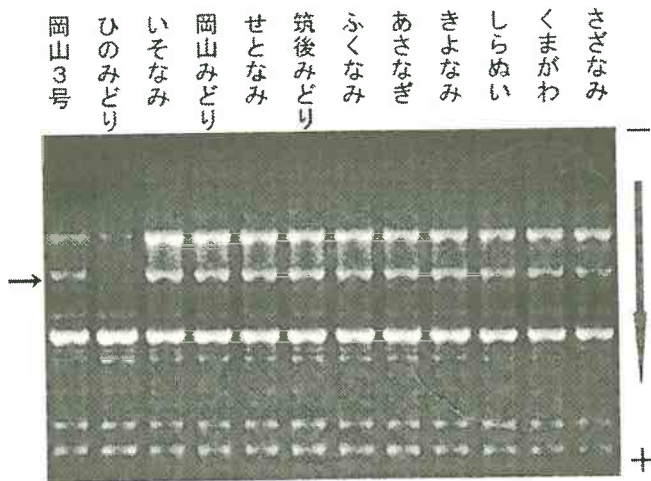


図3 「ひのみどり」を特定するRAPDマーカー (横矢印)
「ひのみどり」に欠失している。

った。これによって、DNAを400bp~20kbpの断片に分離した。次にこの寒天ゲルをランドマークとは異なる塩基配列を認識する6塩基認識制限酵素(EL)の反応液に浸して、ゲル中のDNAを切断した。このあと寒天ゲルを5%アクリルアミドゲルの上に接続して2次元目の電気泳動を行った。電気泳動終了後、ゲルを乾燥してフィルムに密着させ暗箱の中で感光させた。フィルムを現像し、イグサ17品種のスポットパターン

で「ひのみどり」を識別することができる。

を比較して品種間でスポットの有無の違いを検出した。

4. RLGS法による品種識別 (農業生物資源研究所)

(3) 結果 (図4)

RLGS 2次元画像では、イグサDNAの制限

(1) RLGS法とは

本研究で用いた制限酵素ランドマークゲノムスキャンニング (Restriction Landmark Genome Scanning) 法は、一般に「RLGS法」と略称される。本手法は、ゲノム全体に存在する制限酵素サイトを目印にして、DNA断片を2次元画像のスポットとして視覚化し、制限酵素多型を検出する技術である (Hatada et. al. 1991, 奥泉・林崎 1999)。これは、制限酵素サイトの塩基配列変異や制限酵素サイトに挟まれた部分の挿入・欠失変異を1回の実験で多数検出できるという特徴を持っている。そのため、様々な作物における品種識別マーカーの発見に極めて有効な方法である。

(2) 識別法の概略

はじめに、イグサDNAをランドマーク制限酵素(EL)で切断した。このEL酵素は6塩基を認識する制限酵素で、この制限酵素サイトに放射性同位元素(³²P)を取り込ませた。その後、直径3mm長さ63cmの細長いチューブ中の0.8%寒天ゲルで電気泳動を行

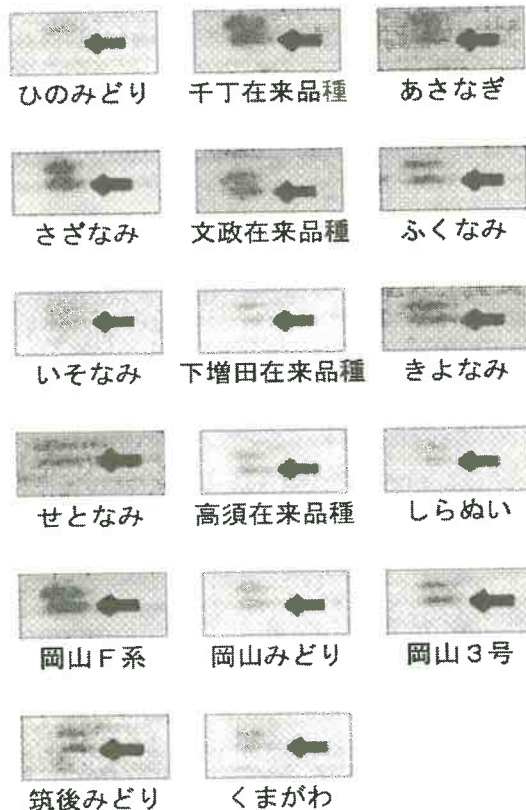


図4 「ひのみどり」を特定するスポットマーカー (矢印)
「ひのみどり」に欠失している。

酵素断片を示すスポットが約300個検出された。そのうち「ひのみどり」の品種識別マーカーと近傍のスポット画像を図4に示す。「ひのみどり」以外の16品種では、スポットが上下に2個検出された。しかし「ひのみどり」では、上のスポットが1個だけ検出され、下のスポット(矢印←で示す)は出現しなかった。したがって、下のスポットの有無で「ひのみどり」の品種鑑定を行うことができる。また、別々に3ヶ所で栽培した「ひのみどり」を採取して分析した結果、3サンプルとも「ひのみどり」と判定され、本品種識別マーカーの信頼性の高いことが確認された。さらにこのマーカーは、DNA塩基配列を調べることによりPCRによる品種鑑定も可能である。

5. おわりに

今回は、最も新しい品種で産業価値の高い

「ひのみどり」の識別が可能となった。「ひのみどり」は交配によって育成された品種であり、このことが比較的容易に識別できた原因ではないかと考えられた。

今回の成果によって「ひのさらさ」および銘柄を表示しない畳表に「ひのみどり」が不正に使われていないか市場調査が可能となった。今後、悪質なケースを発見した場合、法的措置を検討する必要と考えられる。その結果、品種の盗難・不法栽培・不当表示を未然に防ぐ効果が期待できる。

文献

Hatada I. et. al. (1991), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 9523-9527.

奥泉久人, 林崎良英 (1999), 新遺伝子工学ハンドブック改訂第2版, 297-303, 羊土社.



ブレイン テクノニュースの バックナンバーご案内 第 92 号

2002 (平成14) 年7月15日発行

総説

イネゲノム全塩基配列獲得とそこに隠された
遺伝暗号の解説……………佐々木卓治

国内情報

麹菌ゲノムのドラフトシーケンス ……田中敏広
オオムギ遺伝子の存在する一塩基多型を

約4,000個発見 ……佐藤和広

世界初の低アレルギー・高HISグロブリンダイズ
品種「ゆめみのり」の特性 ……高橋浩司

走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM)
によるナノFISH法の開発 ……大谷敏郎

魚類始原生殖細胞を利用した新たな育種技法の開発
…吉崎悟朗・竹内裕・小林輝正・伊原祥子・竹内俊郎

乳成分連続測定装置の開発 ……伊藤和彦
地域の先端研究

チューリップ組織培養系の開発
……………小泉昌広・飯村成美・荘司和明

文献情報

改良型体外培養システムにより作出した胚盤胞の
移植による子ブタの生産 ……(抄訳: 下司雅也)

ラッカーゼ遺伝子を酵母に導入発現させることで
フェノール性発酵阻害物質への耐性を向上させる

……………(抄訳: 家藤治幸)
抗菌タンパク-オカチン ……(抄訳: 岩井純夫)

ASYMMETRIC LEAVES1 遺伝子によって
明らかにされた, シロイヌナズナにおける

knox遺伝子の冗長性……………(抄訳: 丸尾嘉宏)
海産微細藻類Crypthecodinium cohniiによる

ドコサヘキサエン酸の生産 ……(抄訳: 大栗智昭)
海外便り

仔稚魚の生残機構とそれに与える海洋環境要因の
影響の解明-オーストラリア ニューサウス

ウェールズ大学での1年間- ……上原伸二
生研機構からのご案内 (融資制度のご案内)

◀国内情報▶

高純度の絹蛋白質セリシンを産生する蚕品種
「セリシンホープ」の育成

独立行政法人 農業生物資源研究所

山本 俊雄・宮島 たか子・間瀬 啓介・飯塚 哲也

抗酸化性や保湿性などの優れた機能性を有するセリシン蛋白質を高純度で産生する蚕品種「セリシンホープ」を育成した。絹繊維の主成分であるフィブロインをほとんど分泌せず、従来のカイコとは全く異質な蚕品種である。100頭当たり8g内外の絹蛋白質を分泌するが、その98.5%がセリシンであり、変性しないセリシンの大量生産が可能となった。セリシン分泌性は優性遺伝子(Nd)に支配されるので、普通品種と交配して「ハイブリッド品種」として利用できる。

1. はじめに

カイコの繭糸はフィブロインというコアになる部分とその周りを取り囲むセリシンという2種の蛋白質から造られている。このうち、シルク繊維になるのは量比で約75%を占めているフィブロインである。セリシンは繭づくりの際にフィブロイン繊維を接着させる役目を果たすもので、絹織物として利用する際には繰糸や生糸精練の過程で流失するため、これまでは殆ど利用されてこなかった。しかしながら、繭層中のセリシンはかなりの量であり、その有効利用が望まれていた。

一方、フィブロインに関する研究蓄積は膨大であるが、セリシンの研究は遅れていた。それは、セリシンの大部分が生糸加工の過程で廃棄されるので、興味の対象からはずれていたことが最大の原因であるが、セリシンが単一の蛋白質でないため化学的な研究が容易でなかったこと、あるいは重要な生理機能が知られていなかったことも研究が遅れた原因にあげられる。ところが最近になって、セリシンの構造と機能に関する研究が大きく進展し、保湿性、抗酸化性及びチロシナーゼ活性阻害作用のあることなどが明らかにされ³⁾、新素材として注目されるようになった。

現在、セリシンを利用する場合は生糸加工
YAMAMOTO Toshio, MIYAJIMA Takako,
MASE Keisuke, IZUKU Tetsuya
〒390-0812 長野県松本市県1-10-1

の際に排出される精練液から回収したり、採種に用いる繭から蛹を取りだしたあとの繭殻から溶解しているが、これらの方法ではセリシンが変性する上、工程が複雑で生産コストも高くなるといわれている。そこで、純度の高いセリシンをカイコから直接大量生産することを目的に、セリシン蚕の品種育成を行い、セリシン含量が100%近い絹蛋白質を分泌する蚕品種「セリシンホープ」を育成した。

2. 育種素材

フィブロインH鎖の構造遺伝子が異常な裸蛹(Nd)系統および普通品種で多糸量性のKCS83を育種素材として用いた。裸蛹系統は1943年に中野博士によって発見された突然変異種で、後部糸腺が発達しないのでフィブロインをほとんど合成できず、中部糸腺でセリシンだけを合成するが、吐糸量が極端に少なく繭層を形成できないため、大部分が裸蛹になってしまう。現在、農業生物資源研究所昆虫遺伝研究チーム(山梨県小淵沢町)で保存されており、学術研究の材料として珍重されてきたが、直接セリシンの生産に用いるのは難かしかった。また、KCS83は当研究チームが維持している系統であり、幼虫の雌は形蚕斑紋(+⁹)を呈し、雄は斑紋のない姫蚕(p)になる限性形質を有している。

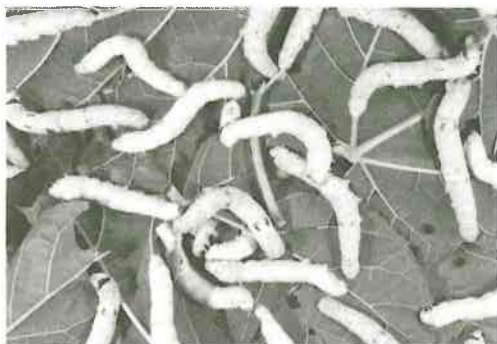


図1 セリシンホープの幼虫
限性形質を有し、斑紋のある方（形蚕，+^p）が雌、斑紋のない方（姫蚕，p）が雄である

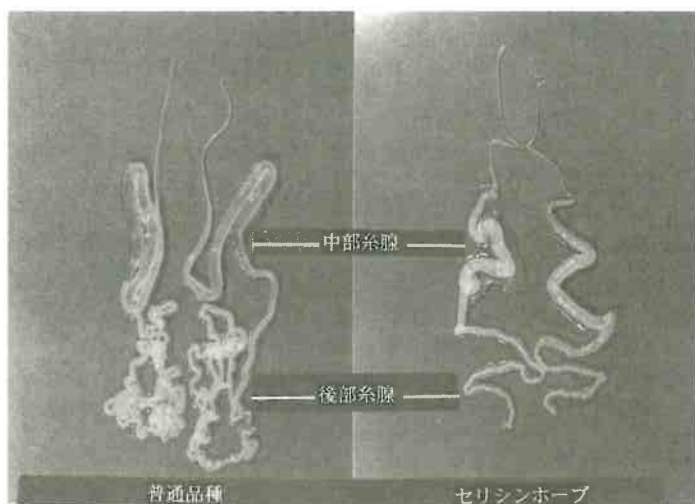


図2 5 齢末期の絹糸腺

セリシンホープはセリシンを合成する中部糸腺は普通品種と同様に発達しているが、フィブロインを合成する後部糸腺はほとんど発達しない



図3 セリシンホープの繭

（左：普通品種、右：セリシンホープ）
セリシンホープは普通品種と同じ大きさの繭を作るが、繭層は薄い

3. 育成経過

育成ではKCS83と裸蛹系統とを交雑したF₁をKCS83に戻し交雑した後、12世代にわたり繭層量、営繭率、強健性等の改良をすすめた。また、常に形蚕を雌、姫蚕を雄にして交配し、限性形質が維持されるようにした。育成世代の前半では裸蛹になる性質を淘汰するとともに、Nd遺伝子のホモ化を行い、世代の後半では吐糸量の向上をはかった。

育成上の最大の困難性は合成された液状絹が体外に吐糸（排出）されにくいことであっ

た。カイコの吐糸機構には2つの要因があり、一つは絹糸腺内の液状絹を押し出す体圧（筋肉や皮膚の圧力）であり、二つにはカイコが頭部をS字状に動かすことによって吐糸管から液状絹を引っ張り出して繊維化する能力であるといわれている。セリシン蚕はフィブロインを合成できないため、繊維状に引き出す能力が働かないので、吐糸できず裸蛹になりやすいと考えられる。従って、フィブロイン分泌能力を低下させたままで吐糸・営繭することのできるカイコ系統を育種する

ことは、当初は予測し得ないことであった。繭糸が吐き出されて繭作りが行われれば、結果として裸蛹が発現しないことになるので、裸蛹の発現率を選抜指標とした結果、吐糸直前には体全体が張りつめた状態になり、体圧によって液状絹の大部分が押し出され、繭層を形成するようになった。

12世代という短期間で育成できたもう一つの理由は、Nd遺伝子のホモ化を早期になしとげたことである。育成途上における劣性遺伝子のホモ化は容易であるが、優性遺伝子はヘテロ型でも発現するので、そのホモ化は相当難しいが、育成の前期に効率よくNdのホ

モ化を達成したので、その後の世代は繭糸量、強健性等、他の実用形質の選抜に力を注ぐことができた。

4. 品種の性状

セリシン蛋白質がリッチであるこの品種が画期的な新素材になることを期待して、「セ

リシンホープ」と命名した。表1に示すように、ほとんどのカイコが吐糸・営繭し（営繭率99%）、裸蛹の発生がまったくみられない。100頭当たり繭層量は約8gであり、アルカリ精練を行ったところ、繭層にはフィブロインがごくわずか含まれるだけで98.5%はセリシン成分であることが分かった。セリシン生産量はもとの育種素材の裸蛹系統の4倍以上に向上していた。

また、セリシン分泌性は優性遺伝子Ndに支配されるので、普通の品種と交配して「ハイブリッド品種」として利用できる利点がある。交雑種にすれば原種で用いる場合より強健で飼育が容易であり、セリシン量も12%程増大することが見込まれる。

さらに、形蚕斑紋(+^p)をもっている幼虫が雌、姫蚕斑紋(p)の幼虫が雄になる限性形質を有しているので、雌雄鑑別が容易で採種能率が高い利点がある。

5. セリシンの機能

セリシンは分子量が400, 250, 150kDaの高分子の3成分と35kDaの低分子成分が認められ⁶⁾、また熱水による溶解性から4種類に分類されている⁷⁾。構成アミノ酸をみると、セリンが30%含まれ、アスパラギン酸、スレオニン、グルタミン酸、アルギニン、リジンのような極性の強い官能基をもったバルキーな側鎖を有するアミノ酸が全体の3/4を占めている。水酸基、カルボキシル基、アミノ基な

表1 「セリシンホープ」のセリシン生産量（2002年、春蚕期）

	対100頭		繭層中の	
	営繭率	繭層量	セリシン割合	セリシン量
既存セリシン蚕 裸蛹系統 (Nd)	%	g	%	g (比率)
	60	1.86	99.5	1.85 (100)
セリシンホープ	99	8.22	98.5	8.10 (438)
セリシンホープ × KCS68 ¹⁾	99	9.21	98.5	9.07 (490)

¹⁾ セリシンホープのセリシン分泌性が優性遺伝子に支配されるので、普通品種 (KCS68) と交配してハイブリッド品種として利用できる。

どの親水性基を多く含むので、熱水やアルカリ液で容易に溶解し、保湿性に優れている⁴⁾。

一方、人の肌には天然保湿成分が存在するが、その成分の27%がセリンであり、他のアミノ酸組成もセリシンと類似するので、セリシンは人の肌になじみやすく皮膚ケアの機能を有し、また、チロシナーゼ活性の阻害作用があるので、皮膚のメラニン色素発生を抑制し美白効果があり、化粧品材料として有望であると考えられている⁶⁾。さらに、ビタミンCより強い抗酸化性を有し活性酸素の発生を抑制する¹⁾。これらの機能はアトピー性皮膚炎の治療に有効であり²⁾、マウスを用いた実験により皮膚癌を抑制したり、セリシンを摂取させると大腸癌を抑制することなどが報告され³⁾、多方面で関心が高まっている。

6. おわりに

生糸の精練液等から回収する現在の方法では、セリシンは加水分解され低分子に変性している上、コスト高で生産量にも限界があると言われている。「セリシンホープ」は変性しないセリシンをカイコから直接取得できるという大きな利点がある。現在、その機能性について従来のセリシンとの違いを検討中であり、また化粧品会社と協力して、美白作用を生かした化粧品の開発を行っている。純度の高いセリシン蛋白質の大量生産を可能にした「セリシンホープ」は皮膚ケア剤や再生医療等の分野に利用できるものと大きな期待

が寄せられている。

文 献

- 1) Kato K. et al (1998), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62, 145-148.
- 2) 加藤範久ら (2000), *Fragrance J.* 28, 28.
- 3) 加藤範久 (2001), 54回製糸夏期大学, 25-32.
- 4) 小松計一 (1997) シルクへの招待, 52-69, サイエンスハウス社, 東京
- 5) 庄司昭伸ら (1999), *皮膚*, 41, 481-485.
- 6) Takasu Y. et al (2002), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66. (Under printing)



ブレイン テクノニュースの バックナンバーご案内 第 93 号

2002 (平成14) 年 9 月15日発行

総 説

メタン発酵法によるバイオマスエネルギーの
生産に関する研究の現況……………野池達也

国内情報

草や木を原料としたメタノール燃料合成技術の
開発と検証機「農林グリーン1号機」の誕生
……………坂井正康・中川 仁

超臨界メタノール処理による木質系バイオマス
の液化技術……………坂 志朗・南 英治

In vitro重複受精系の開発による花粉管誘導機構
の解明とその背景 ……………黒岩常祥
体外成熟卵子への顕微授精による子豚の誕生
……………菊地和弘・中井美智子・柏崎直巳

メダカの性決定遺伝子の発見 ……………長濱嘉孝
地域の先端研究

産業廃棄物を利用した環境循環型非塩素系
凍結防止剤に関する研究開発 ……………花松憲光
文献情報

クローン牛におけるX染色体不活性化の
異常パターン ……………(抄訳：下司雅也)

アトピー性疾患予防におけるプロバイオティクスの
効果 ……………(抄訳：西村新吾)

除草剤耐性ナタネの花粉は3 kmも飛ぶ
……………(抄訳：岩井純夫)

トウモロコシSEMAPHORE1はknox遺伝子と
オーキシン極性輸送を制御する
……………(抄訳：丸尾嘉宏)

魚油をベースとした構造脂質の酸化特性に対する
乳化剤の影響……………(抄訳：室田一貴)

海外便り

大規模専業農家を高度に支援する作物生産機械の
通信・制御技術の開発 - 米国カーネギーメロン
大学での1年間 - ……………村上則幸

生研機構からのご案内
新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業にお
ける平成14年度採択課題。

新事業創出研究開発事業(地域型)における平成14
年度採択課題。

融資制度のご案内。

◀国内情報▶

すり身排液からのDHA及びEPA
含有油脂の新規回収法

銚子海洋医学研究所

高橋 力 一

イワシすり身排液から遠心分離により油脂を回収した。すべての工程が低温下で行われたため、得られた油脂のDHA及びEPA含量並びにトコフェロール含量は、従来法である煮取り法で得た油脂に比べ高かった。また、本法で得られた油脂の酸化安定性並びに栄養機能性は煮取り法で得られたものに比べて高いことも分かった。また、イワシすり身排液からの油脂の回収により、最終排液の水質も向上し、環境保護の観点からも本法は優れた技術と考えられた。

1. はじめに

魚油中に多く含まれるドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)などの多価不飽和脂肪酸は、制ガン作用、抗動脈硬化作用、抗血圧作用、脳機能維持作用等の特徴的な生理作用を有することが報告されており、各分野へのこれら機能性脂肪酸の利用が積極的に図られている。したがって、水産物からのDHAやEPAの効率的かつ経済的な分離・回収システムの開発が常に望まれている。DHAやEPAの主たる供給源は、イワシ、カツオ、マグロなどの魚油であり、これらの魚油は煮取り法と呼ばれる工程を経て魚体各部から工業的に製造されている。例えば、フィッシュミールの生産工程でも魚油が得られるが、この場合、蒸煮した原料を圧搾し、生じた油分を遠心分離することで採油を行っている。一方、水産食品製造時に排出される残滓はDHAやEPAなどの油脂を多量に含んでいるにもかかわらずほとんど利用されることはない。油脂含有廃棄物は水質汚濁の原因ともなり、これら廃棄物からの油脂の効率的回収法の確立が求められる。例えば、すり身加工では、すり身排液と骨・皮などの残滓が主として排出されるが、特にすり身排液からの有効成分の回収とこれによる排液の浄化は、環境保護の観点からも積極的な検討が

TAKAHASHI Rikiichi

〒288-0001 銚子市川口町2-6529-4

期待されている。

ところで、魚体を高温で蒸し煮する煮取り法で得られた魚油はそのまま食用油脂として用いることはできず、さらに、精製(脱色・脱臭など)を行う必要がある。しかし、魚油に多く含まれるDHAやEPAは分子中に多数の二重結合を有するため極めて不安定であり、煮取り工程などのように高温で処理する方法ではDHAやEPAは容易に酸化され、得られた魚油の品質が低下する恐れがある。さらに、煮取りで得られた粗油の精製も高温で行われるため、こうした工程では反応性の高いDHAやEPAは異性化や重合など様々な反応を起こし、その栄養価が損なわれる恐れがある。したがって、加熱工程を伴わない天然に含まれる魚油そのものの効率的な回収方法が求められる。そこで、我々は、すり身排液からの低温下での魚油の回収法を開発した。本稿では、今回開発したイワシすり身排液からの低温抽出油の特徴について概説する。

2. イワシすり身排液からの魚油の効率的回収

本研究では、分離・回収工程での加熱を行わない方法でDHA及びEPA含有油脂を得るために、遠心分離による油脂の分離に着目して検討を行った。また、イワシ肉の通年の利用と工程中での油脂の酸化防止という観点から、冷凍イワシを材料とした。すなわち、冷

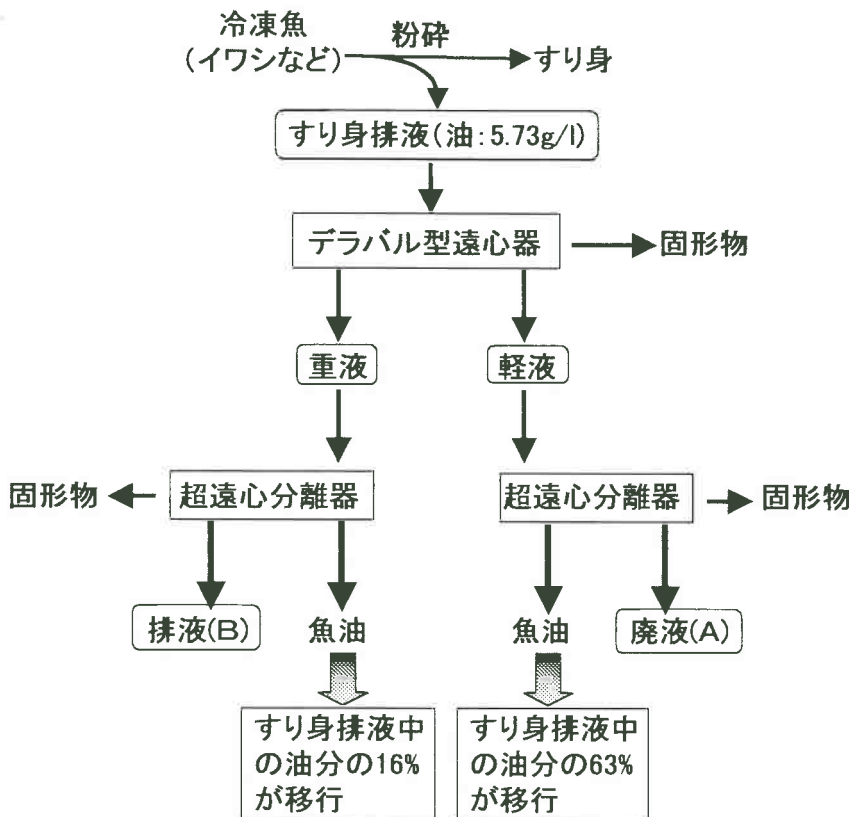


図1 イワシすり身排液からの油分の回収

なイワシすり身排液からの油脂の分離方法を検討した。

その結果、図1に示したような回収法により、すり身排液中に含まれる油分を効率的（回収率約70%）に分離することができた。一方、油分回収後に生じた排液（AとB）中の油脂含量は、基のすり身排液に比べ

凍イワシを粉碎しこれを水に晒すことでイワシすり身が得られるが、この際排出される排液を遠心分離器に供することで冷凍魚の冷熱を利用した低温下での油脂の回収を試みた。この場合、乳化による油分回収量の低下、温度が低すぎることによる魚油の固化による回収量の低下、ライン設定が不適切なことによる魚油回収量の低下、空気との接触による油脂の酸化等の問題点が予想されたので、こうした点を考慮して種々の改善を行い、効率的

てかなり低く、これに伴いそれぞれの排液のBOD及びCODも低下していることが明らかとなった。したがって、本回収システムによりすり身排液による環境への負荷をかなり軽減できることも示された。

3. イワシすり身排液から得られた油脂の性状

イワシすり身製造過程で生ずる排液から得

表1 各種イワシから調製した低温油と煮取り油中のDHA+EPA含量とトコフェロール含量

	マイワシ		ウルメイワシ		カタクチイワシ	
	低温	煮取り	低温	煮取り	低温	煮取り
DHA+EPA(%/脂肪酸)	29.0	26.2	27.7	24.1	29.4	27.1
トコフェロール(μg/g脂質)						
α-	63.9	9.9	9.7	1.5	75.8	1.5
β-	-	-	-	-	-	-
γ-	0.7	-	0.6	-	0.5	-
δ-	0.5	-	-	-	-	-
計	64.6	9.9	10.3	1.5	76.3	1.5

られた油脂は薄い黄色をしており、味も通常の市販魚油と変わらず苦み等もなかった。したがって、これらの油脂はこれ以上の精製（脱色・脱臭）をせずに食用油脂として利用できると考えられた。

また、排液から低温条件下で得られた油脂（低温油）のDHA+EPA含量について、同じイワシ魚体から煮取り法（通常の魚油の工業的な調製法）で得た油脂と比較してみると（表1）、どのイワシ油の場合も低温油中の含量の方が高いことが分かった。さらに、トコフェロール含量についてみると（表1）、煮取り油では低温油と比較してそのトコフェロール含量は著しく低いことが示された。低温油と煮取り油とのDHA+EPA含量及びトコフェロール含量の違いは、煮取り工程中にこれらの脂溶性成分が酸化等により失われたためと思われる。こうした結果は、イワシすり身製造時に生ずる排液から低温抽出により得たイワシ油（低温油）が、DHAやEPAを含む魚油の供給源として有望であることを示すものである。

4. イワシすり身排液から得られた魚油の酸化安定性

これまで述べてきたように、すり身製造過程で得られる排液中から本事業で開発した遠心法にて回収された油脂（低温油）は、その工程が低温なため、調製中の油脂の酸化が起りにくくかつトコフェロールなどの抗酸化物の消失も最小限に抑えられていた。すり身排液から得られた油脂中のトコフェロール含量の高さはその酸化安定性にも影響し、これらのイワシ油は煮取り法で得られたもの比べて明らかにその酸化安定性が高かった。

低温油の酸化安定性の高さは含まれるトコフェロール含量の高さに起因すると考えられたが²⁾、その他の要因として微量成分の影響も推測された。例えば、煮取り工程中にはDHAあるいはEPA由来の共役不飽和脂肪酸が微量に存在することが考えられる。さらに、イワシすり身排液から得られた油脂はそれ以

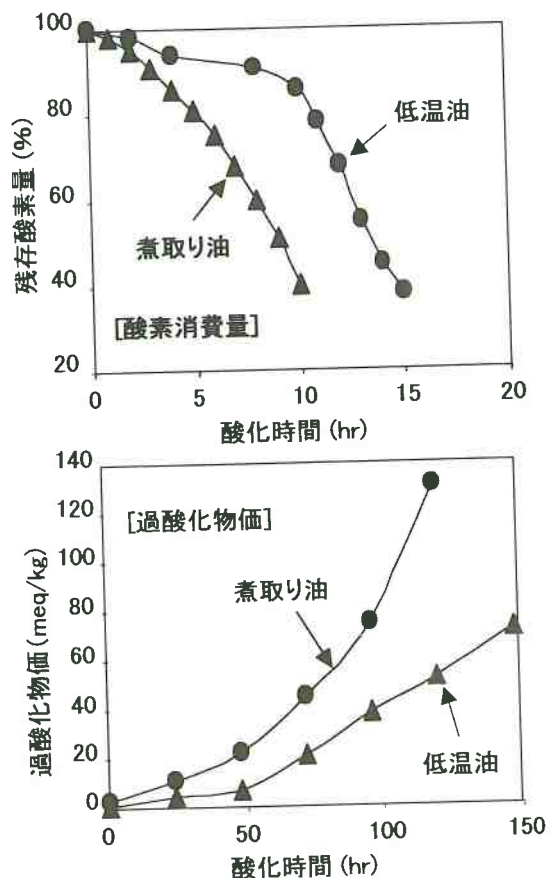


図2 低温油と煮取り油から調製したTGの酸化安定性

上の精製を行う必要がないのに対し、煮取り油では煮取った油脂をさらに減圧蒸留などを用いて精製しなければならず、この場合、高温にするため重合物やさらなる共役脂肪酸の生成が予想される。こうした化合物は油脂の酸化安定性に悪影響を及ぼすことが考えられる。

そこで、低温油と煮取り油をそれぞれ、活性炭-セライトカラムクロマトグラフィーにより含まれるトコフェロールを完全に除去した後³⁾、ケイ酸カラムクロマトグラフィーにより精製し、トリアシルグリセロール (TG) 画分のみとして酸化実験を行った (図2)。その結果、こうした条件下でも明らかに低温油の方が煮取り油よりも酸化安定性の高いことが示された。現在、両TG中に含まれる微量成分について詳細な検討を行っているところであるが、煮取り油中にはDHAあるいはEPA由来の共役不飽和脂肪酸の存在が示唆

されている。共役型のDHAあるいはEPAは脂質の酸化を促進することがこれまでの検討により明らかにされており⁴⁾、煮取り油の酸化安定性の低さはこうした成分に起因するとも考えられる。

5. おわりに

魚体を高温で蒸し煮する煮取り法で得られた魚油は色も黒く粘性も高いため、そのまま食用油脂として用いることはできず、さらに、精製（脱ガム、脱酸、脱臭、脱色など）を行う必要がある。ただし、魚油に多く含まれるDHAやEPAは分子中に多数の二重結合を有するため極めて不安定であり、こうした工程中あるいは蒸し煮の過程で異性化や重合など様々な反応が進行する可能性が高い。その結果、最終製品中に高温での処理中に生成したトランス酸や精製工程では除去できなかった重合物などが残存することが予想できる。これらの成分は本来の魚体中にはなかったものであり、その悪影響が懸念される。

これに対して、イワシすり身排液から低温

下で回収した魚油の色及び味は一般の市販魚油とほぼ同じであり、そのまま食用油脂として利用できる。こうした魚油は、天然の魚体に含まれるイワシ油そのものともいえ、栄養価も従来法で得られた魚油とは異なることが期待できる。実際、本研究で開発した魚油と煮取り法で得られたイワシ油の栄養効果を比較したところ、DHAやEPA含量をほぼそろえたにもかかわらず、前者の方が高い栄養機能性を示すことが示されている。

文 献

- 1) 原健治 (1996), EPA・DHAの生化学と応用, 幸書房, 東京
- 2) Frankel, E.N. (1998), Lipid Oxidation, 129-160, *The Oily Press, Dundee, Scotland*
- 3) Frankel, E.N. et al (1979), *Lipids*, 14, 961-967
- 4) Suzuki, R. et al (2001), *J. Oleo Sci.*, 50, 491-495

◀国内情報▶

千葉県かん水抽出フルボ酸の
水稲苗生育へ与える諸効果千葉工業大学 工学部
山田パリーダ・山口 達 明

地殻変動によって地中に封鎖された海水はかん水と呼ばれるが、かん水は千葉県においては天然ガスやヨウ素を生産する貴重な天然資源である。我々は、かん水から天然ガスとヨウ素採取後の廃かん水からフルボ酸（FA）を回収し、その化学的特性および植物生理活性効果について調べた。その結果、廃かん水抽出FAが土壌抽出FAに比べて脂肪族炭素に富んだ構造を持つことが特徴であり、すぐれた植物生理活性効果があることを見いだした。さらに、微量の廃かん水FAをイネ育苗に用いると根張りのよい根が得られ、これが収穫量の増加につながることを実地的に確認した。

1. はじめに

かん水とは地殻変動により地中に封鎖された海水のことであり、“化石海水”または“地層水”とも呼ばれている。現在、これらかん水から天然ガスとヨウ素が工業的に採取されており、生産された天然ガスは地域のエネルギー源の一部を担っているし、ヨウ素は世界でチリに次いで第2位の生産高を誇るほどである。しかし、かん水（Ks）からこれら天然ガスおよびヨウ素を採取した後の廃かん水（KsW）は年間5,000万t以上にも上り、残念ながらそれが不用物として海に放流されている。廃かん水が褐色に着色していることから腐植物質の含有が予測され、それが水溶性の腐植物質（フルボ酸）であることを確認した。その有効利用が当研究の主な目的である。

一方、腐植物質（腐植酸、フルボ酸など）とは、植物残さや微生物、プランクトン遺体が微生物による分解を受け、その分解産物から化学的、生物的に合成された暗色の高分子有機化合物であり、一般に土壌、泥炭、風化炭、湖底、海底堆積物、海水などのあらゆる環境に存在すると言われている¹⁾。その用途は農業、工業、漁業、医薬など多分野にわた

YAMADA Parida, YAMAGUCHI Tatsuaki
〒275-0016 千葉県習志野市津田沼2-17-1

っている。近年、特に農業と医薬用途が注目されて研究が進められ、農業用途として土壌環境改善効果と植物生理活性効果が注目を浴びている。

そこで本研究では、国際腐植物質学会（IHSS）の抽出法に準じて、廃かん水からフルボ酸（FA）を回収し、その化学的特性究明を目的で赤外線吸収スペクトル（FT-IR）、元素組成、¹³C核磁気共鳴スペクトル（¹³C-NMR）、分子量分布、官能基量などの測定を行い、一般的によく知られている土壌、草炭あるいは風化炭抽出FAと比べた。また、水耕液を用いたイネ幼苗の栽培を実施し、植物生理活性効果の有無について確認を行った。さらに、実用性に向けた研究の一環として、苗床に微量の廃かん水フルボ酸（KsW-FA）を添加してイネを育て、それを用いた水田におけるイネの栽培実験を行い望ましい結果が得られたので報告する。

2. かん水および廃かん水は有機物の貯蔵庫だった

かん水および廃かん水には千葉県内のガス会社3社提供のものを用いた。表1に示したようにかん水および廃かん水の酸アルカリ性を示すpHと塩分濃度を示す電気電導度（EC）が海水と殆ど変わらない値を示したのに対

表1 原かん水および廃かん水の性質

種類	かん水 提供社名	pH	EC (mS/cm)	TOC
				(mg/L)
原かん水(s)	K	7.8	48.0	47.2
	N	6.2	43.0	42.5
	G	7.6	44.7	68.7
廃かん水(sW)	K	7.4	46.4	51.7
	N	6.5	43.1	42.4
	G	6.9	44.0	56.9
海水	—	6.8	47.9	1.5

し、全有機炭素量（TOC）が両者とも海水に比べ50倍も多いことが判明した。

かん水は今から約数十万年から数百万年前にかけて海底の動物性・植物性プランクトンの死骸が堆積して、圧力や温度など外的条件にかかったことで生成されたといわれている。現在の雨水の浸透を殆ど受けないと考えられているため、一般的な水中の腐植物質に比べかん水中の含有量が多いと思われる。また、かん水からの天然ガスやヨウ素採集作業後に、かん水に比べ廃かん水のヨウ素含有量が10分の1に減少しているが、その他の項目には大きな変化がみられない²⁾ことから、ヨウ素採取作業による影響は殆どないと思われる。

3. 廃かん水FAは脂肪族炭素に富んだ腐植物質である³⁾

かん水および廃かん水より回収したFAの化学的特性を把握するため、赤外線吸収スペクトル（FT-IR）を用いて調べた結果、採取地に関係なく類似性を持ったかん水特有の

FAが得られることが判明した。一般的に土壌FAの化学的性質は土壌によってかなり大きく変動するが、かん水FAの性質は類似性を持っているため、安定供給が可能であると予測される。各かん水FAの元素組成は土壌、草炭あるいは風化炭抽出FAと比べ炭素含有量が少なく窒素、酸素含有量が多いことが特徴的であった（表2）。かん水FAは土壌FAに比べ構成炭素の脂肪族炭素割合が高く、窒素を多く含有していることが明らかになった。このことから、各かん水FAには縮合芳香族構造が比較的少なく、酸性官能基量（カルボキシル基（COOH）、フェノール性水酸基（Ph-OH））が高く、相当量のアミノ基および弱いペプチド結合が残存していると推測される。¹³C核磁気共鳴スペクトル（¹³C-NMR）の測定結果より求めた芳香族炭素割合を表す f_{a1} 、 f_{a2} の値からもこのことがうかがえる。とくに、廃かん水FAにおいてこの傾向が強い。各かん水FAの分子量はいずれも1,000前後を示し、その他のFAより低いことが分かった。したがって、かん水FAは比較的高い化学反応性と生物活性を持つ有機化合物であると考えられる。

4. 廃かん水FAは微量でイネ苗の生育を促進する

4.1 イネ幼苗の水耕栽培実験

イネ種子（コシヒカリ）を発芽させ、均一に成長した幼苗を選抜し、プラスチック容器に設置したポリエチレン製のネットの上に幼苗を3本固定した。春日井氏水耕液を対照区

表2 各種フルボ酸の性質

種類	FAの種類	FA抽出量	C H N O				Ash (%)	COOH (mmol/g)	Ph-OH (mmol/g)	分子量	芳香族化度	
			(d.a.f.%)								f_{a1}	f_{a2}
かん水FA		(mg/L)										
	原かん水(Ks-FA)	27.1	31.7	3.4	1.2	63.7	0.0	4.8	0.4	1030	28.8	32.1
	廃かん水(KsW-FA)	58.4	40.5	4.3	2.2	53.0	0.0	5.3	0.6	1000	22.4	24.2
その他FA		(mg/g)										
	土壌標準(AS-FA)	19.0	47.7	5.2	0.0	47.1	0.0	—	0.7	1000	27.5	29.3
	カナダ草炭(CP-FA)	44.8	47.8	4.6	0.3	47.3	0.2	7.5	—	50000	19.2	22.6
	中国風化炭(NWC-FA)	43.9	49.3	3.6	0.4	46.7	2.3	—	—	1400	29.1	34.9

表3 各種フルボ酸の稲幼苗生育への影響

処理	長さ (cm)		乾重量 (mg)		根/地上部	葉緑素含有量 (mg/100 cm ²)
	根	地上部	根	地上部		
対照	7.0 (±1.6)	24.7 (±1.9)	105.0	416.0	0.25	2.82 (±0.10)
KsW-FA	8.5 (±2.0)	19.8 (±3.3)	151.0	315.0	0.48	2.97 (±0.09)
AS-FA	11.4 (±1.2)	17.8 (±3.0)	144.0	337.0	0.43	2.74 (±0.10)
CP-FA	7.7 (±1.6)	24.8 (±3.7)	143.0	415.0	0.34	3.08 (±0.09)
NWC-FA	8.7 (±1.9)	18.8 (±2.6)	135.0	310.0	0.44	2.95 (±0.13)

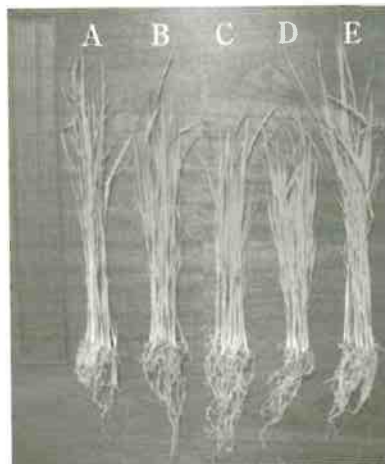


図1 FA処理稲苗の生育状況

A: 対照 B: 廃かん水FA C: 土壌FA
D: 風化炭FA E: 草炭FA



図2 廃かん水FA処理稲苗の生育状況

とし、それに廃かん水FA (KsW-FA) 添加濃度 1, 5, 10, 20ppmの処理を施した。水耕液をpH5.5に調整し、28℃明所条件下で2週間生育させた。2週間後根および地上部の長さや乾重量、根の呼吸速度の測定を行った。

対照に比べKsW-FA処理において根の伸長および乾重量とも生育促進が認められ、根の

伸長において10ppm添加で最大の3.3倍増、根の乾重量において5ppm添加で最大の3.4倍増という結果が得られた。FAの存在で分枝根と根毛が発達する現象が生じた。そこで、

根の活力を示す指標である根の呼吸速度を測定したところ、根の重量増加に伴い呼吸速度が増加していることが確認され、FAの存在によりイネ根が活性化されると推測した。しかし、地上部の生育に大きな違いが認められなかった。

4.2 イネ苗の苗床栽培実験

フルボ酸としてKsW-FA、土壌フルボ酸(AS-FA)、草炭フルボ酸(CP-FA)および風化炭フルボ酸(NWC-FA)をそれぞれIHSS法で抽出したのを用い、イネ品種はコシヒカリ、苗床にはヤンマーすこやか人工培土(ヤンマー農機㈱)を用いた。イネ苗の栽培は千葉県九十九里町一般農家用のビニールハウス内で行い、灌漑用水に井戸水を利用した。

透水しないパレット(29×37×2 cm³)に苗床を敷き、そこへ100g/パレットの消毒済みイネ種子を播いた。イネ苗の水需要に応じて井戸水(対照)、それぞれのFA 5 ppm溶液 2Lを与え、ビニールハウス内で2週間生育させた後、それぞ

れの処理より30本のイネ苗をランダムに選び根および地上部の長さ、乾重量、葉緑素含有量の測定を行った。

測定結果は表3に示す。対照に比べ全てのFA処理では根の生育が促進されることが確認された(図1)。とくに廃かん水FA処理では根の乾重量が最も多い約50%の増加を示し

表4 廃かん水フルボ酸処理苗による稲生育促進効果

処理	葉緑素含有量 (mg/100 cm ²)	乾重量		分けつ数 (本/株)	穂長 (cm)	1穂当たり 稔実粒数 (粒/穂)	もみ千粒重 (g)
		根	地上部				
対照	3.98 (±0.08)	5.8	15.4	21.8 (±4.2)	17.2 (±1.6)	60.2	23.7
KsW-FA	4.34 (±0.11)	13.7	39.7	30.6 (±1.5)	18.4 (±1.4)	59.8	23.4

た。根の伸長において土壌FA処理より短い結果となっているが、これは廃かん水FA処理苗の分枝根などの発達が最もよく苗床と強く絡み合っているため、測定時に土壌から根を完全に外す作業によって切れてしまったことが大きな原因である(図2)。地上部の生育において全ての処理では対照と同等か劣った結果となったが、葉緑素形成においては増加傾向を示した。これはFAの特徴の一つで、幼苗に対し地上部よりも主に根に与える影響が大きいことがうかがわれる。イネ育苗においてこれは重要なことで、FA添加によって根がよく発達した苗を得ることが可能であると確認できた。この傾向はとくに廃かん水FAにおいて強いことも付け加えておきたい。

腐植物質の植物に対する直接的な働きとして、イネの根と腐植物質間に分子レベルで物質のやり取りがあると思われる。そのやり取りに関わる腐植物質は、腐植画分に随伴している低分子のポリフェノールやキノン類⁴⁾、あるいは腐植物質の化学構造の一部⁵⁾が想定されている。また、腐植物質の植物ホルモン様効果も指摘されている⁶⁾。しかし、その詳細に関する研究はまだ乏しく、今後の研究に期待される。

5. 廃かん水FA処理苗を用いるとイネが増産する

水田灌漑用には利根川水、肥料にはくみあい有機入り尿素高度液状複合肥料222号(片倉チッカリン(株))を用いた。イネの栽培は同



図3 廃かん水FA処理苗を用いた稲の生育状況(1)

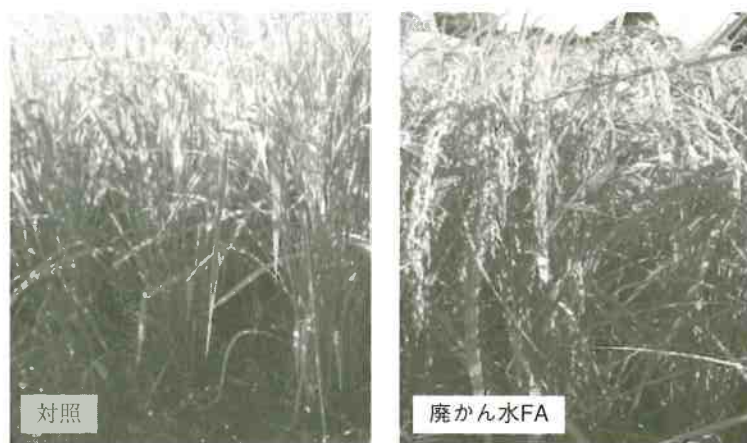


図4 廃かん水FA処理苗を用いた稲の生育状況(2)

一地区の休耕水田で行った。

さらに、育苗3週間後のそれぞれのイネ苗をうね間30cm、株間30cmとして休耕水田(8×7.5m²)に定植させ、生育期間中に分けつ数、根の伸長、草丈、乾重量、葉緑素含有量、収穫後に穂長、穂当たり稔実粒数、もみ千粒重などの測定を行った。粒数計算法により1m²当たりの収量を計算した。

測定結果を表4に示す。生育期間中に行った測定より、対照に比べKsW-FA処理では分けつ数に40%、根の伸長に61%、根乾重量に136%、地上部乾重量に157%、葉緑素含有量に9%の増加が認められた。根の発達が進んだ苗を用いることで休耕田であって土壌の栄養状況が必ずしもよくないのにも関わらず、分けつが促進され、対照に比べて茎も太く発達していた(図3)。これで倒伏に強いイネが得られると期待される。

収穫時の穂長が7%の増加を示した(図4)が、その他の項目においては大きな違いが認められなかった。休耕田であるため対照の1m²当たりの収量は0.345kgに留まり、KsW-FA処理では0.475kgまで増加して37.7%の増収となった。

以上の結果より、廃かん水フルボ酸を苗生育に用いることで根の生育が促進されて根の活性化が起こり、定植後より多くの養分吸収が可能になり、分けつが進むと同時に葉緑素の形成が促進されたことで二酸化炭素の同化も進み、より多くの収穫が得られると確信される。

6. おわりに

千葉県産出かん水および廃かん水腐植物質に関する一連の研究により、ヨウ素回収した後の廃かん水から効率良くFAを回収し、それを極く微量を施用すれば、植物の生育を促進させることがわかった。さらに、植物生育期間の短縮、肥料利用効率の向上、農薬使用の軽減など様々な面において効果を示すことが期待される。

謝 辞

稲の圃場実験にご協力いただきました小倉幸子氏のご一家に心甚より感謝いたします。

文 献

- 1) 米林甲陽 (1995): 水環境学会誌, 18 (4), 258-259
- 2) 関東天然ガス会社案内
- 3) 山田パリーダら (2001), 第17回日本腐植物質研究会, 17, 43-44
- 4) W, Flaig. 著, 広瀬春朗抄訳 (1978), 肥料科学, 1, 97-121
- 5) 明石和夫ら (1975), 土肥誌, 46 (5), 175-179
- 6) Chen, Y et al (1990), *Humic Substances In Soil and Crop Sciences*, 161-186

◀地域の先端研究▶

花色素分析を活用したトルコギキョウ 新花色品種の育成

秋田県農業試験場野菜・花き部

間 藤 正 美・柴 田 浩・佐 藤 孝 夫・檜 森 靖 則

従来の雑種強勢育種は後代を見て初めて目的の花色が得られるかが分かる。そこで育種効率を上げるために両親の花色素を分析し、目的の花色の得られる組み合わせを決定した。目的とする黄緑地にピンクの覆輪花色のF1は、片親にケンフェロール配糖体のみからなると考えられる黄緑花色を用い、もう一方の親となる白地にピンクの覆輪花色と交雑すると得られた。花色素分析は後代を見ずにF1の組み合わせを決定できるので、雑種強勢育種に効率的である。

1. はじめに

秋田県では昭和61年からトルコギキョウの生産が本格化し、夏季冷涼な気候を利用した夏秋良品出荷を目指した栽培体系が盛んである。トルコギキョウの生産額は急速に伸び、キク、ユリについて県第3番目の作目となり、全花き生産額の5%を占めている。しかし、近年トルコギキョウの単価は、他県との競合や生産量の増加により低迷しており、そのため単価の見込める秋田県オリジナル品種の育成を行っている。

トルコギキョウは自殖弱勢を示し、固定種よりF1種の方が生育旺盛である。生産者は主にF1種子を用い、F1にあった栽培をしている。そこでトルコギキョウの育種をF1で行うが、従来の雑種強勢育種法は後代を見なければ目的の花色が得られたかが分からない。バラの交雑育種では花色素分析を活用して組み合わせ親を決定し、目標とする花色の育成に成功している¹⁾。そこで、目標花色を市販品種にない黄緑地にピンクの覆輪花色とし、トルコギキョウの雑種強勢育種に花色素分析を活用し、F1で目標花色になる花色素を含む両親を選抜し、その両親の組み合わせで目標花色のF1を育成した。花色素分析から、目標花色とするF1を得るための両親を

MATOU Masami, SHIBATA Hiroshi,

SATOU Takao, HIMORI Yasunori

〒010-1231 河辺郡雄和町相川字源八沢34-1

決定できるので、その育種法を報告する。

2. トルコギキョウ新花色品種の育成

2.1 トルコギキョウの花色と花色素

トルコギキョウの花色は、紫、赤紫、ピンク、藤などのシアニック系と黄、白、黄緑などのアシアニック系があり、これら単色以外に白地に紫の覆輪、白地にピンクの覆輪、黄緑地に紫の覆輪、黄地にピンクの覆輪がある。シアニック系の花色素発現はアントシアニンが関与しており、紫はアントシアニンのデルフィニジン配糖体、赤紫はシアニジン配糖体、ピンクはペラルゴニジン配糖体が主に関与している^{2, 3)}。黄花色の発現はカロチノイドが、黄緑花色の発現はクロロフィルが関与しているようである。白花色の発現はフラボノールによるが⁴⁾、一般にこの花色素はすべての花色に共通して含まれ、アントシアニンと共にフラボノイドに分類される。

トルコギキョウの花色は豊富であるが、黄緑地にピンクの覆輪花色は市販に無く、この花色で県オリジナル品種の育成を目指した。目標花色はクロロフィルとペラルゴニジン配糖体の両方の性質が必要となるので、黄緑花色と白地にピンクの覆輪花色の交雑を行った。

2.2 F1親候補の選定

黄緑花色と白地にピンクの覆輪花色との交

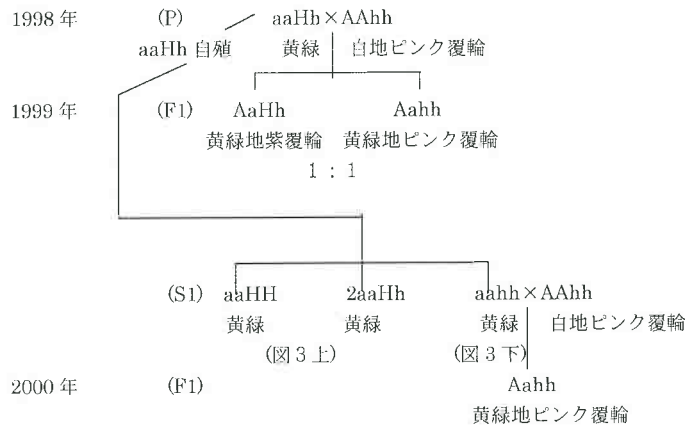


図1 交雑結果から推定される両親の遺伝子型と黄緑自殖系統後代の遺伝子型の分離比

A : 優性のアントシアニン合成遺伝子,
 a : 劣性のアントシアニン合成遺伝子
 H : 優勢の水酸化酵素遺伝子,
 h : 劣性の水酸化酵素遺伝子
 (P) : 親世代, (F1) : 雑種1代, (S1) : 自殖1代

のピンクはペラルゴニジン
 を主要色素とし、覆輪の紫
 はデルフィニジン为主要色
 素として含み、それぞれの
 花色素がピンクと紫の花色
 発現に関与していることが
 分かった。ペラルゴニジン
 はデルフィニジンより水酸
 基が2個少なく(図2)、
 ペラルゴニジン为主要色素
 とするピンクは、デルフィ
 ニジン为主要色素とする紫
 に対し、水酸化酵素を欠い
 た劣性形質である⁷⁾。従っ
 て、先に述べた1:1の分
 離比は、親に用いた黄緑花
 色の水酸化酵素遺伝子がヘ
 テロであることを示し、こ

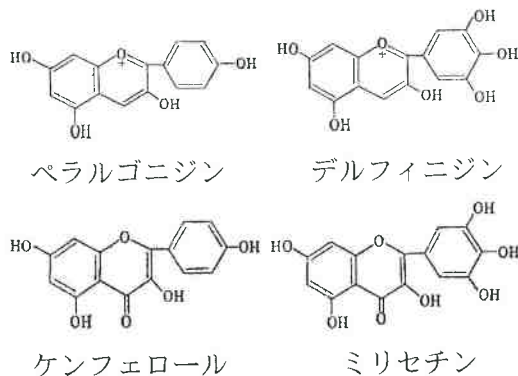


図2 アントシアニジンの構造式(上)
 フラボノールの構造式(下)

雑を1998年に行い、翌1999年に花色を調査した
 ところ、黄緑地にピンクの覆輪と黄緑地に紫
 の覆輪花色がほぼ1:1に分離した(図1)。

花色と花色素の遺伝的関係を知るために、
 覆輪花色のピンクと紫の部分のアントシアニ
 ジン(アントシアニンの糖を外した色素)を
 分析した。花卉を1%塩酸-メタノールに浸
 漬し、花色素を抽出した⁵⁾。抽出物を1N-塩酸、
 100℃下で加水分解し、得られた試料を1.5%
 リン酸と水:アセトニトリル:酢酸:リン酸
 (107:50:40:3)の濃度勾配を使った高速
 液体クロマトグラフィーで分析した⁶⁾。覆輪

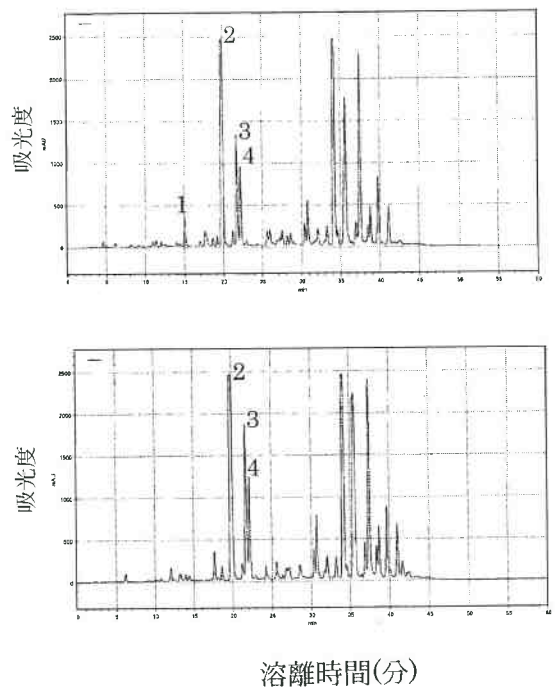


図3 黄緑花色2タイプのクロマトグラム
 1 : 吸収極大値358nmからミリセチン配
 糖体と推定
 2 : 吸収極大値347nmからケンフェロー
 ル配糖体と推定
 3 : 吸収極大値353nmからケンフェロー
 ル配糖体と推定
 4 : 吸収極大値353nmからケンフェロー
 ル配糖体と推定

の黄緑花色の後代にはこの遺伝子が劣性ホモの個体が分離し、これを片親にして、白地にピンクの覆輪花色と交雑すれば目的の黄緑地にピンクの覆輪花色が得られると考えた(図1)。

2.2 黄緑花色系統の選抜

劣性ホモの黄緑花色を選抜するために、アントシアニン生成と同じ水酸化酵素が関与しているフラボノールを分析した。花卉をメタノールに浸漬し、花色素を抽出し、アセトニトリル：水：リン酸(10：90：0.2～30：70：0.2)の濃度勾配を使った高速液体クロマトグラフィーを行い、付属のフォトダイオードアレイを使って得られたピークの吸収スペクトルを分析し、ピーク物質を推定した⁵⁾。黄緑花色はケンフェロール配糖体と推定されるピーク2, 3, 4を含むタイプと、これらのピークに加えてミリセチン配糖体と推定されるピーク1を含むタイプの2種類あった

(図2, 3)。

1999年に黄緑の2タイプを白地にピンクの覆輪花色と交雑し、2000年に花色を調査した。目的のピンクの覆輪花色は下図のピーク1を含まないケンフェロール配糖体のみから成ると推定されるタイプを交雑すると得られ、上図のタイプを片親とした場合はF1で目的としない紫の覆輪が出現した。下図のタイプはミリセチン配糖体を欠くことから、水酸化酵素遺伝子が劣性ホモのため、F1でペラルゴニンが生成されて目的花色が得られたと考えられる。一方、上図のタイプはミリセチン配糖体と推定されるピーク1を含むので、水酸化酵素が働きF1でデルフィニジンを生成する個体が出現し、目的以外の花色が出現したと考えられる。従って、ケンフェロール配糖体のみから成ると推定されるタイプを片親にすればF1で目標花色が得られるので、花色素分析の雑種強勢育種への活用は後代を見ずに組み合わせを決定でき効率的である。

表1 花の特性(平成12年12月8日播種)

系統、品種名	花形	花冠内面 底部の色 ²⁾	花冠内面 先端の色 ²⁾	花冠内面 中間部の色 ²⁾	花の 大きさ	花柄の太さ (mm)	花柄の長さ (mm)
秋試交1号	鐘状	黄緑、3512	鮮紫ピンク、9504	淡黄緑、3502	中輪	2.2	72.1
あずまの粧	杯状	黄緑、3512	隠紫ピンク、9712	黄白、2501	大輪	2.1	137.7
メロウパープルライム	鐘状	黄緑、3512	鮮紫、8607	淡黄緑、3502	中輪	2.2	131.9

²⁾: JHSカラーチャートによる

あずまの粧, メロウパープルライムは市販品種

表2 生育特性(平成12年12月8日播種)

系統、品種名	草丈 (cm)	茎の 剛直性	茎色	茎径 (mm)	主茎節数 (節)	分枝数 (本)	葉長 (mm)	葉幅 (mm)	葉色	草型	開花日 ²⁾
秋試交1号	97.5	強	緑	6.5	14.6	4.9	101.3	61.7	濃緑	頂天咲き	7月21日
あずまの粧	78.8	強	緑	6.4	11.6	4.9	94.6	67.2	濃緑	スプレー咲き	7月10日
メロウパープルライム	85.9	強	緑	6.7	11.5	4.8	90.1	53.2	濃緑	スプレー咲き	7月10日

²⁾: 第2花の開花日

表3 作型別の生育特性(平成13年播種)

播種日 (月日)	草丈 (cm)	主茎節数 (本)	分枝数 (本)	花蕾数 (個)	茎径 (mm)	切り花盛期 ²⁾ (月日)	ロゼット化率 (%)
2月15日	91.7	16.7	3.3	15.3	5.0	8月18日	0
4月15日	84.8	11.4	2.4	15.0	5.2	9月4日	0
5月15日	61.0	9.0	2.2	8.0	4.3	9月23日	0

²⁾: 「改訂版 花の切り前」(誠文堂新光社)の4段階に相当

3. 育成品種の特徴

花色は黄緑地にピンクの覆輪である。花形は鐘状で中輪、花柄の長さはやや短めである(表1)。

草丈は90cm以上と高く、主茎節数は多く、草姿は頂点咲きである。茎の剛直性は強である。開花の早晩は、中性である(表2)。

無シェード栽培は12月上旬播種から4月中旬播種の作型まで良品生産が可能である(表3)。5月播種のシェード栽培も可能である。

4. おわりに

花色素分析の活用はF1で目的の花色を得るために、後代を見ずに両親の組み合わせを決定でき、雑種強勢育種に効率的である。この手法は、遺伝的性質を把握し易い種子繁殖性作物の雑種強勢育種に活用できると考えられる。今後、トルコギキョウの他の花色や他の作目をF1で育成するときにも花色素分析を活用したい。

育成した黄緑地にピンクの覆輪花色は市販に無く新規性があるため、オリジナル品種と

して登録申請した。この品種は花柄がやや短く、頂天咲きのため花束などへの利用も適し、市販の黄緑地に紫の覆輪花色品種と組み合わせた利用が考えられる。黄緑地は太陽光下よりも蛍光灯下で映える色のため、室内の利用でより一層特性が発揮される。

文 献

- 1) 有隅健一・大谷俊二(1988), 植物色素(林孝三), 増訂第2版, 遺伝・育種と色素, 388-403, 養賢堂, 東京
- 2) Markham, K. R. and Ofman D. J. (1993), *Phytochemistry*, 34, 679-685
- 3) 間藤正美・柴田浩(2000), 園学雑, 69, 別1, 349
- 4) Asen, S. et al (1986), *Phytichemistry*, 25, 2509-2513
- 5) Mato, M. et al (2001), *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 70, 315-319
- 6) Oren-shamir, M. et al (1999), *Plant Sci.*, 140, 81-86
- 7) Nielsen, K. M. et al (1997), *Plant Sci.*, 129, 167-174

◀文献情報▶

ヒツジの子宮内膜における
GM-CSF量の調節

Regulation of endometrial granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) in the ewe.

W.J. McGuire^a, K. Imakawa^b, K. Tamura^b, C.S.R. Meka^b, R.K. Christenson^a

^aUSDA, Roman L. Hruska U.S. Meat Animal Research Center, USA, ^bUniversity of Kansas Medical Center, USA.

Domestic Animal Endocrinology, 23, 383-396 (2002)

反芻家畜においてインターフェロン τ (IFN τ) は妊娠認識に関係しており、その産生は子宮内膜のサイトカインや成長因子により調整されている。サイトカインのひとつである顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) が、ヒツジ胎仔からのIFN τ の分泌を増加させることが知られているが、子宮内膜におけるGM-CSF産生調節機構についてはいまだ明らかにされていない。そこで、エストラジオール-17 β (E2) あるいはプロジェステロン (P4) を単独あるいは同時に14日間感作させた卵巣摘出ヒツジ、発情周期14日目あるいは妊娠14日目のヒツジの子宮内膜におけるGM-CSFの発現について検討した。卵巣摘出・E2単独あるいはE2/P4同時感作区の子宮内膜におけるGM-CSFのmRNA量は、卵巣摘出・ステロイド無感作区 (対照区) あるいは卵巣摘出・P4単独感作区に比べて3倍高かった。発情周期14日目のヒツジにおける子宮内膜中GM-CSFのmRNA量は、卵巣摘出・E2単独あるいはE2/P4同時感作区とほぼ同じレベルにあったが、妊娠ヒツジのGM-CSFのmRNA量は、これらの約2倍であった。バイオアッセイ法により測定した発情周期中あるいは卵巣摘出・E2/P4同時感作区の子宮内膜培養上清中のGM-CSF濃度は、卵巣摘出・ステロイド無感作、E2あるいはP4単独感作区に比べて3倍高く、妊娠ヒツジの子宮内膜培養上清中の

GM-CSF濃度は、発情周期中あるいは卵巣摘出・E2/P4同時感作区よりも有意に高かった。ウエスタンブロット法により調べたところ、GM-CSFはE2/P4同時感作卵巣摘出ヒツジ、発情周期あるいは妊娠ヒツジの子宮内膜培養上清中に検出された。また、免疫組織学的にあるいはin situ hybridization法により、管腔上皮、腺上皮および間質領域にGM-CSFが認められた。以上のことから、卵巣摘出ヒツジへのE2/P4同時感作は発情周期中のレベルと同等のGM-CSF産生を起こさせるのに十分であったことが示された。しかしながら、妊娠ヒツジにおけるGM-CSFのmRNA量および蛋白量は、卵巣摘出あるいは発情周期中のヒツジの2倍量であった。胎仔、加えてステロイド感作の有無が、子宮内膜におけるGM-CSF産生を調節している可能性が明らかとなった。

反芻家畜において、IFN τ は母胎の妊娠認識物質として重要なサイトカインであり、その作用機構や産生調節機構の解明が精力的に進められている。本論文においては、IFN τ 産生調整因子のひとつと考えられるGM-CSFの産生調節機構の一部が明らかにされた。GM-CSFはIFN τ 分泌を促進するとともに、IFN τ によって子宮内膜からのGM-CSF産生が促進されることが報告されており、胚自身あるいは胚が分泌するタンパク質がGM-CSF産生に及ぼす影響についてさらなる検討が必要である。妊娠認識機構についてはまだまだ未解明の部分が多く、さらなる研究の進展が望まれる。

(抄訳：下司雅也, GESHI Masaya, 独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所)

◀文献情報▶

酵母における窒素制御

Nitrogen regulation in *Saccharomyces cerevisiae*

Boris Magasanik, Chris A. Kaiser

Department of Biology, Massachusetts
Institute of Technology, USA*Gene*, 290, 1-18 (2002)

多くの微生物は様々な窒素含有化合物を細胞窒素源として利用する能力をもつ。この能力にはこれら窒素含有化合物を細胞内に取り込むための透過酵素 (permease) や、代謝によりアンモニアを生成する酵素を必要とする。

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* にとって好ましい窒素源は、グルタミン、アスパラギン、アミノ酸混合物、そしてペプトンなどの名で市販されているペプチドとされる。一方、利用は出来るもののあまり好きではない窒素源として研究室で使用されるものは、プロリンが代表的であり、他にオルニチン、ガンマーアミノブチレート、アラントイン、尿素などが上げられる。酵母は菌体外に存在する窒素含有化合物の種類や量の情報量を検知し、菌体内にその情報を伝えるセンサー機能を持ったものが存在するはずである。

現在、酵母 *S. cerevisiae* においてはL-アルギニンやL-リジンを特異的に取り込むための Can1、ヒスチジンを取り込むための Hip1、Hip2、トリプトファンに特異的な Tat2、また幅広いアミノ酸の取り込みに対応できる Gap1、AGP など、様々な透過酵素が知られている。これら透過酵素はターゲットとなるアミノ酸は違うものの、アミノ酸配列レベルでは相同性があり、その相同性より17ヶのタンパクがアミノ酸取り込み酵素ファミリーとして分類されている。その中のSSY1と呼ばれるタンパクは、Hip1やGap1などと高い相同性があるものの、他のものに比べN末端側が276アミノ酸ほど長いという特異な特徴を有している。I. IRAQUIらはこのことに注目し、このSSY1は菌体外に存在するアミノ酸を感

知するセンサーではないかと考えた。そう思い立った根拠として、同じく酵母 *S. cerevisiae* で菌体外の糖を検知するセンサーとして認識されている Snf3p および Rgt2p というタンパクも、そのアミノ酸配列の相同性から糖透過酵素ファミリーに属するものの、他のものに比べ特異的にC末端が長いという特徴を持つからである。

そこでSSY1の役割を調べるため、まずはSSY1遺伝子の破壊株を作成したところ、菌体外の種々のアミノ酸の取り込みの低下が見られた。また、トリプトファン取り込み酵素 TAT2 や、ジ、トリペプチドの取り込みを行う PTR2、イソロイシンなど側鎖基をもつアミノ酸を取り込む BAP1、その他いろいろなアミノ酸透過酵素の発現が著しく低下することが観察された。このようにSSY1遺伝子の破壊により、いろいろなアミノ酸透過酵素の発現が阻害されたことは、SSY1が菌体外アミノ酸のセンサーであることを示唆するものである。

なお、SSY1に存在するN末端側の長い部分は菌体外に位置するものではなく、菌体内に位置するものである。別の実験として、イソロイシンを唯一の窒素源とする培地で通常の酵母においてはAGPなどの取り込み酵素が活発化してくる。しかしSSY1のN末端側の、他の透過酵素より余分に長い部分のみを高発現させてみたところ、AGPの発現の活発化が著しく抑えられることが観察された。細胞内において「アミノ酸を取り込み」と指示するシグナル伝達がSSY1のN末端側部分のみを過剰に発現することで阻害されたことより、このN末端側部分が、やはり菌体外アミノ酸情報の伝達に関与しているものと考えられる。

(抄訳：家藤治幸, IEFUJI Haruyuki, 独立行政法人酒類総合研究所)

◀文献情報▶

rheinはTGF- β_1 によって
誘導される尿細管上皮細胞
の肥大や細胞外マトリックス
産生を抑制する

Rhein inhibits renal tubular epithelial cell hypertrophy and extracellular matrix accumulation induced by transforming growth factor β_1 .

Guo X. H., Liu Z. H., Dai C. S., Li H., Liu D. and Li L. S.

Research Institute of Nephrology, Nanjing University School of Medicine, China.

Acta Pharmacol Sin, 22, 934-938 (2001)

糖尿病性腎症は、糖尿病の合併症の中でも最も重要なものの一つであり、網膜症、神経障害とともに糖尿病の三大合併症と呼ばれている。糖尿病性腎症は、病理学的に糸球体基底膜の肥厚とメサンギウム基質の増加を特徴とし、糸球体病変主導の疾患として認知されている。しかし近年、糖尿病性腎症初期の尿細管でも尿細管上皮細胞の肥大や細胞外マトリックスの増加といった変化が生じていることが明らかにされ、糖尿病性腎症における尿細管病変の重要性が注目されることとなった。

本論文で筆者らは、糖尿病性腎症をはじめ様々な腎疾患で用いられている漢方薬であるダイオウに含まれるアントラキノンの一種rheinに注目し、その尿細管上皮細胞に対する作用を検討、報告している。

筆者らは、尿細管上皮細胞として、ブタ近位尿細管由来の株化細胞であるLLC-PK1細胞を用いて検討を行った。腎細胞の肥大において中心的役割を果たすことが報告されているトランスフォーミング成長因子 β_1 (TGF- β_1)を培養LLC-PK1細胞に添加して24時間インキュベートしたところ、細胞サイズの顕著な増大が認められた。同時に細胞タンパク質含量の増加や、 ^3H ロイシン取込みの増加も観察され、TGF- β_1 によって細胞肥大が

引き起こされたものと考えられた。一方、TGF- β_1 添加時にrheinを0-25 mg/Lの濃度で共存させたところ、細胞サイズ増大、細胞タンパク質含量増加、 ^3H ロイシン取込み増加は、何れも用量依存的に抑制された。

次いで、細胞外マトリックス産生に関して検討を行った。TGF- β_1 処理によりLLC-PK1細胞におけるフィブロネクチンの産生は約2倍に増加したが、これはrhein処理によって用量依存的に抑制された。また、フィブロネクチンおよびIV型コラーゲンのmRNA発現をRT-PCR法で検討したところ、何れもTGF- β_1 添加で発現が増加し、それらはrhein処理によって抑制されることが明らかとなった。

このように、rheinはTGF- β_1 誘導性の尿細管上皮細胞の肥大を抑制するとともに、細胞外マトリックスの産生増加を転写および翻訳レベルで抑制することが明らかにされたが、その詳しい機序については今後の課題としている。

近年、糖尿病性腎症の治療法として、血糖コントロールに加えて血圧コントロールを行うことが有用との報告が相次いでおり、特に進展した腎症では血圧コントロールがより重要であると考えられている。血圧コントロールは糸球体をターゲットにした治療法であり、その有用性は広く認められるところとなったが、糖尿病性腎症の進展を完全に抑えるには至っていないのも現状である。冒頭で述べたように、糖尿病性腎症の発症・進展に尿細管障害が重要であることが明らかになってきた。従って、今後、本論文で紹介したような尿細管をターゲットにした治療法を開発することにより、より効果的な糖尿病性腎症の対処法が確立されるかも知れない。

(抄訳：織田浩司, ODA Hiroshi, マルハ株式会社中央研究所)

◀海外便り▶

反芻動物における脂肪組織分泌ホルモン (レプチン) に関する研究 —西オーストラリア大学とCSIROでの1年間—

独立行政法人 農業技術研究機構 北海道農業研究センター
角 川 博 哉

1. はじめに

2000年10月からの1年間、日豪科学技術交流研究員派遣制度を利用して在外研究を行う機会を得た。本制度は、日豪間の科学技術交流を目的とし豪州連邦政府と科学技術庁（当時）との申し合わせに基づき、我が国の試験研究に従事する国家公務員（当時）を豪州連邦政府招請給費生と

して豪州政府連邦科学産業研究機構（CSIRO）附属試験研究機関等に派遣するものである。以上が、日本政府側から得ていた情報であったが、この制度に応募し合格した後に、キャンベラにある Australian Academy of Science（以下、AAS）という

機関から授与される Australian S&T Award 200-2001 という賞であることが判明した。科学技術庁は長期在外研究員と共に募集し選考後に合格者をオーストラリア政府に推薦するが、一端、オーストラリア政府にバトンタッチされた以後は、AASや東京にあるオーストラリア大使館と日本人研究員が直接交渉をすることになり、日本政府側は直接的には関与しない。そのため出国までには、とまどうことも多かった。なお毎年2名が日本から派遣され、私と同年度の派遣者は郵政省の方で、
KADOKAWA Hiroya

〒062-8555 札幌市豊平区羊ヶ丘1

シドニーで通信衛星を用いた宇宙通信技術の研究するという全く分野の違う研究者であった。

パースは西オーストラリア（WA）州の州都であり、成田からカンタス航空の直行便が出ている。WA州は大陸の1/3を占める最大の州であり、日本の7倍もの面積にわずか180万人の人口が住み、そのうち130万人がパースに集中している。

内陸部には広大な砂漠やブッシュと呼ばれる低灌木地帯が広がっている。パースは旅行家の兼高かおるさんが、「世界一美しい街。ぜひ住んでみたい街」と言った程良い町だと、現地在住の邦人から聞いた。また有名

な観光地として、砂漠の中の奇景ピナクルズ、野生のイルカと遊ベジュゴンや白い貝殻ビーチで有名なモンキーマイア、紺碧の海と小型有袋類クオッカとクジラが見られるロットネスト島などがある。またパースから南西20kmの歴史ある港町フリーマントルはアメリカズ・カップの開催地として知られる。

パースの気候は地中海性気候であり、12～2月の乾期（夏）と5～8月の雨期（冬）に分かれるが、パースの気候はカリフォルニアにも優ると言われ、一日当たりの日照時間は平均8時間である。したがって1年を通じて暮らしやすい気候である。



図1 西オーストラリア大学の建物

2. 在外研究について

筆者は西オーストラリア大学のGBマーチン教授とCSIROのNRアダムス博士の共同研究グループに参加して研究を行った。西オーストラリア大学は、古くから反芻動物の栄養と繁殖の関係について研究をしていることで知られ、多くの優れた論文を発表している。マーチン教授は各国の学会等での重役も兼務しているが、一方で、非常に温厚で親切な人物であり、滞在中には家族共々非常にお世話になった。GBマーチン教授とNRアダムス博士は学生時代からの数十年の親友同士である。

乳牛に頻発する分娩後の繁殖問題を解決し、分娩間隔を短縮させることが必要である。そのためには様々な要因を解決する必要があるが、重要な時期の一つは分娩から初回排卵までの時期であり、初回排卵を遅延させないことが重要であると考えられている。乳牛では分娩後早期に急激な乳量の増加が起きる一方で、それを補う必要量の飼料を十分に摂取できないために厳しいエネルギー欠乏状態にあり、このエネルギー欠乏が初回排卵日数に影響すると考えられている。しかしその詳細なメカニズムは不明である。最近、血中等にはエネルギー充足度を脳に伝える信号物質が存在し、脳は信号物質に対応して視床下部や下垂体に作用し性腺刺激ホルモンの分泌を調節しているという仮説が考えられるようになってきた。しかし乳牛の分娩後初回排卵に関わる性腺刺激ホルモン分泌調節におよぼす末梢側信号物質については不明である。

レプチンは最近発見された脂肪組織が分泌するホルモンであり、ラット等では性腺刺激ホルモン分泌調節中枢に対する末梢側信号物質である可能性が提唱されている。しかし反



図2 西オーストラリア大学農学部

芻動物のレプチン測定系の開発には多くの研究者が挑んだものの、在外研究を検討した頃には成功したグループはなかった。筆者が西オーストラリア大学とCSIROの共同研究グループに着目した理由はここにあり、彼らが世界で初めて反芻動物用の信頼性の高いレプチン測定系の開発に成功したことにある。

彼らが開発したウシレプチンの測定系を用いて、分娩後乳牛における血中レプチン濃度の推移や初回排卵日数との関係について検討した。分娩前数週から分娩後数ヶ月の間のレ

プチン濃度の推移を測定した。その結果、興味深い結果が得られた。すなわち血漿中レプチン濃度は分娩前数日まで高い値を示し、分娩頃以後に急激に減少した。低下後には個体ごとに様々な期間低値を示した後に増加に転じ、濃度が安定した

後に初回排卵が観察された。さらに分娩から増加に転じる日までの日数は分娩後初回排卵日数との間に有意で強い正の相関関係にあることも明らかになった。これらの結果から、レプチン分泌は分娩後早期に抑制されており初回排卵日数はレプチン分泌の回復日数に影響されると結論され、レプチンが分娩後乳牛における重要な信号物質であると考えられた。これらの結果は重要であると考えられたため、論文発表も行った。

3. オーストラリアにおける研究生活

パースは治安もよく物価も安く、メイトシップと呼ぶ友情を大事にし、人も街も身障者にやさしく、困っている人には手をさしのべる相互介助の精神に溢れている、というのが渡豪前に聞いた評判である。実際に非常に暮らしやすい町であった。電化製品等の工業製品は輸入に頼っているため日本の価格と変わ

らないが、「直せば長く使えるもの」という位置づけであり、夕方や週末に物を作ったり修理するのが当然という文化である。したがって研究生活でも、実験機器やパソコン等を修理しながらとことん使い、ガラス類も多少割れていても廃棄などせずと大事に使うのが当たり前である。また明るくお喋り好きで、気を回してお節介を焼くことはないが、聞かれば親切に教えてくれるのが国民性とされている。そのためか研究室でも11時と15時にお茶を飲みながら楽しくディスカスをし（13時にランチ）、17時には帰宅する。その上に毎年数週間のバカンスに、7年に一度のサバティカルである。世界的に優れた研究成果をどんどん出す機関とは、決してアクセク働かなければいけない職場ではないようだ。オーストラリア人は週末には河辺でシートを広げピクニックを楽しむ。幼少のときからヨットをするのが当たり前で、アメリカズ・カップの常勝国である理由がよく判る。お金を節約しながら時間を贅沢に使い大いに遊ぶというのがライフスタイルである。マーチン教授の趣味も、真っ赤なオープン・カーでジムカーナというタイムアタック競技をすることである。日本との差には愕然とするばかりである。オーストラリアは農業国で、国土面積や地下資源や観光資源に恵まれているという背景もあるものの、人口の少ない国である。それゆえか少ない人員や予算を非常に賢く使い、人生の質と研究効率の両方を高めるという優れた考え方やそれを実現できる組織等があるのかもしれない。

4. おわりに

オーストラリア滞在中に驚いたことのひと



図3 大学内に笑いカワセミが住む豊かな自然

つは、英国・米国・ニュージーランド・南ア等の英語圏の研究者が互いに行き来し、滞在し共同研究をすることが非常に盛んなことである。特に季節性のある研究分野では、季節が逆である南半球と北半球の間の共同研究はライバルに勝つための重要な戦術になる。しかし日本はこのような英語圏の研究者同士の活発な交流から除外されていると感じた。言葉の壁があるがそれだけが理由でないことも明らかである。日本の将来を考えると多くの日本人が外国で気軽に研究でき、また多くの英語圏研究者が日本にも頻繁に訪れ滞在し研究をしたくなるような、様々な変革の必要を感じる。

日本とは異なる風土の中で生活し研究したことは、得がたい体験となった。最後にこのように大変貴重な在外研究の機会を与えてくださった当時の科学技術庁、農水省、北海道農業試験場、オーストラリア大使館、AASの関係者にこの場を借りてあらためてお礼を申し上げます。

編集後記

◆11月に入っていきなり寒波襲来となりましたが、ブレインテクノニュース第94号をお届けします。

本号の総説では、最近話題の農産物産地問題のひとつであるシイタケ産地判別技術について、時本景亮氏（財団法人 日本きのこセンター菌蕈研究所）に紹介していただいた。関連した国内情報として、大坪研一・中村澄子氏（独立行政法人 食品総合研究所）らによる米のDNA品種判別技術、斎藤 彰氏（独立行政法人 農業技術研究機構 九州沖縄農業研究センター）・飯牟禮和彦氏（熊本県農業研究センター 農産園芸研究所）・奥泉久人氏（独立行政法人 農業生物資源研究所）らによるDNAマーカーによるイグサ品種「ひのみどり」の識別技術を紹介していただいた。本号の表紙には、地域の先端研究である間藤正美・柴田浩・佐藤孝夫・檜森靖則氏（秋田県農業試験場）らの研究成果である花色色素分析を活用したトルコギキョウの新花色品種の写真を、著者らのご厚意により提供していただいた。

◆そのほかの国内情報として、山本俊雄・宮島たか子・間瀬啓介・飯塚哲也氏（独立行政法人 農業生物資源研究所）らの高純度の絹蛋白質セリシンを産生する蚕品種「セリシンホープ」の育成、高橋力一氏（銚子海洋医学研究所）のすり身排液からのDHA及びEPA含有油脂の新規回収法、山田パリーダ・山口達明氏（千葉大学工学部）らの千葉県かん水抽出フルボ酸の水稻生育へ与える影響を紹介していただいた。

◆海外便りとしては、角川博哉氏（独立行政法人 農業技術研究機構 北海道農業研究センター）の西オーストラリア大学とCSIROでの反芻動物における脂肪組織分泌ホルモン（レプチン）に関する研究を、また文献情報では、下司雅也氏（独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所）、家藤治幸氏（独立行政法人 酒類総合研究所）、織田浩司氏（マルハ株式会社 中央研究所）にそれぞれご紹介いただいた。

◆お忙しい中をご執筆下さった研究者各位に、深甚の謝意を申しあげます。

（畠山記）

本誌著作物の複写利用等について

本誌掲載の論文・記事の複写・転載等を希望される方は、執筆者ならびに生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）の許諾を得て行って下さい。

ブレインテクノニュース（第94号）

平成14年11月15日発行

編集兼発行者 堤 英 隆

発 行 所 生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）

〒105-0001 東京都港区虎ノ門3丁目18番19号 虎ノ門マリビル10F

TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

e-mail kikaku@tokyo.brain.go.jp

URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/>

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 2002