

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

TECHNO NEWS

〈生研機構〉

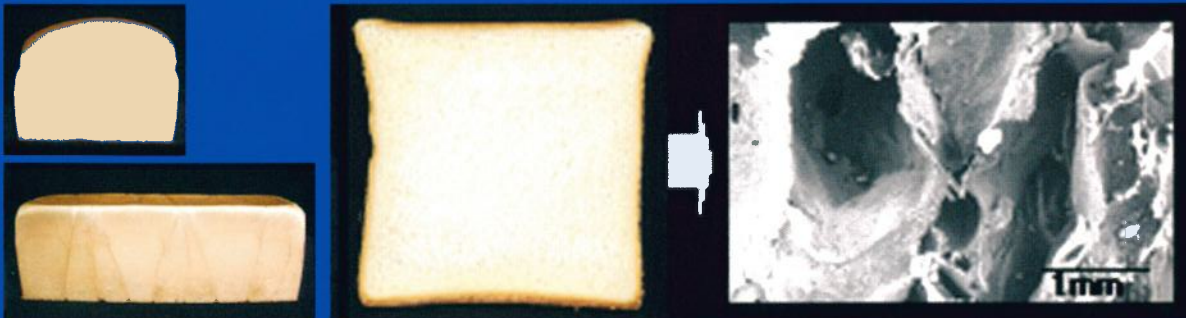
ブレインテクノニュース

第98号

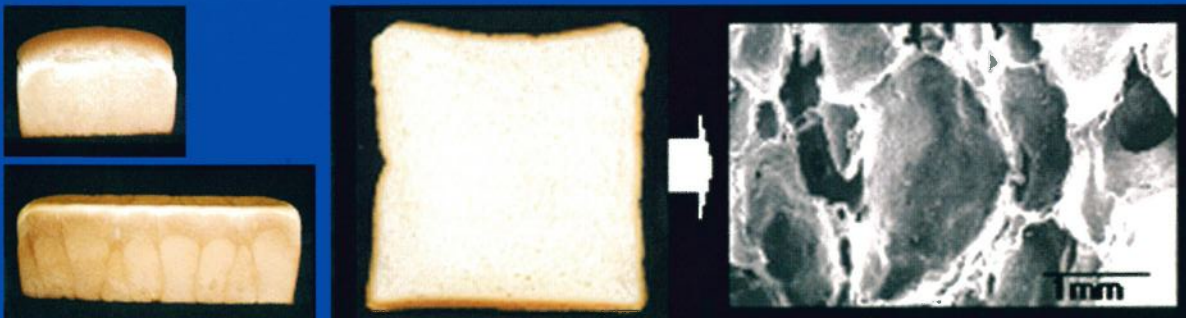
SEPTEMBER 15, 2003

国産小麦粉への「グリアジン」画分配合による 大量製パン技術の開発

国産小麦「ホクシン」による開発技術の製品(グリアジン画分
3%配合、中種改良)



「外国産小麦」による従来技術の製品(標準中種法)



アサマ化成株式会社 新井千秋・柴田朋子・丹下幹子
東京都立食品技術センター 廣瀬理恵子

目 次

総 説

- アルコール濃度の低い清酒の開発 1
 木曾 邦明 (独立行政法人 酒類総合研究所)

国内情報

- 酸性土壌における生産性の向上をめざして
 —アルミニウム耐性機構と耐性遺伝子の解析— 5
 松本 英明・佐々木 孝行 (岡山大学 資源生物科学研究所)
- 果樹のDNA鑑定 9
 山本 俊哉 (独立行政法人 農業技術研究機構 果樹研究所)
- デシケータ法を利用した木質建材からの放散アセトアルデヒドの簡易測定法 13
 塔村 真一郎・井上 明生・宮本 康太
 (独立行政法人 森林総合研究所 複合材料領域 積層接着研究室)
- マダイ養殖漁場における海水中の細菌群集の有機物分解活性と群集組成の変動 17
 坂見 知子 (独立行政法人 水産総合研究センター 養殖研究所)
- 畜舎排水浄化処理装置の開発と実用化 21
 道宗 直昭 (生物系特定産業技術研究推進機構 畜産工学研究部)

地域の先端研究

- 新規酵母を用いた低アルコール濃度清酒の開発 26
 橋本 建哉¹・伊藤 謙治² (¹宮城県産業技術総合センター ²宮城県酒造協同組合)
- 小麦タンパク質「グリアジン画分」による国産小麦粉を用いたパンの
 大量生産技術の開発 30
 新井 千秋¹・廣瀬 理恵子²・柴田 朋子¹・丹下 幹子¹
 (¹アサマ化成株式会社 ²東京都立食品技術センター)

文献情報

- 卵丘細胞を用いた核移植胚由来子牛における
 ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAの増加 35
 K. Takeda et al. (*Molecular Reproduction and Development*, 64, 429-437, 2003)
 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)
- 糸状菌 *Neurospora crassa* のゲノム配列 36
 Galagan J.E. et al. (*Nature*, 24, 422 859-868, 2003)
 抄訳: 織田 健 (独立行政法人 酒類総合研究所)
- 都会のポプラと田舎のポプラ 37
 J.W. Gregg et al. (*Nature*, 424, 183-187, 2003)
 抄訳: 岩井 純夫 (鹿児島大学 農学部)
- OsTBI* はイネの分げつ成長を負に制御する 38
 T. Takeda et al. (*The Plant Journal*, 33, 513-520, 2003)
 抄訳: 丸尾 嘉宏 (東京大学 大学院 農学生命科学研究科)
- 粉末モデルにおけるゼイン2次構造におよぼす水分活性と脂質の影響 39
 Y. Mizutani et al. (*J. Agric. Food Chem.*, 51, 229-235, 2003)
 抄訳: 郡山 剛 (日本水産株式会社 中央研究所)

海外便り

- ウンカの飛来を高精度に予測せよ—米国立大気研究センターでの一年間— 40
 大塚 彰 (独立行政法人 農業技術研究機構 中央農業総合研究センター)

- 生研機構からのご案内 4

表紙写真説明

写真の上段は、国産麵用小麦「ホクシン」の小麦粉を用いたパン製品で、下段は、「外国産小麦」のパン用強力粉を用いた製品を示す。国産小麦による製品では、小麦タンパク質の「グリアジン画分」添加による生地伸展性の向上、中種発酵の改良および酵素配合によるパン内相の微細構造（肉眼並びに走査電顕で認められる細かな気泡、薄い気泡膜構造）の改善が行われ、「外国産小麦」の標準中種法による製品と品質面で遜色のない製品の大量生産ライン技術が開発された。これは、国産小麦の生産、消費拡大を目的として行われた開発研究で、詳細については本誌の地域の先端研究 30 頁をご覧ください。

◀総説▶

アルコール濃度の低い清酒の開発

独立行政法人 酒類総合研究所

木 曾 邦 明

アルコール濃度の低い清酒は一般に香味のバランスが悪く、いわゆる「水っぽい」感じになりやすい。しかし、エキス分、酸度、アミノ酸度を調整することで、清酒本来の香味を残したままでも、アルコール濃度の低い清酒が可能であることがわかった。

1. はじめに

近年の酒類の消費動向を見ると、清酒やウイスキー類が減少傾向にある一方、雑酒（大部分は発泡酒）、リキュール類（増加の大部分はチューハイと思われる）が急激に増加している。果実酒も一時期のブームは過ぎたものの無視できない存在になっている。

これら近年需要が増加している酒類に共通していることは、アルコール濃度が5%から12%程度と比較的低いことである。この背景には、消費者の健康志向の高まり、軽快な香味の嗜好へと、嗜好の変化等があるものと推定される。清酒の一般的なアルコール濃度は15%程度であるので、このアルコール濃度の高さが、需要減少要因の一つと思われる。

蒸留酒であるしょうちゅう、ウイスキー類は製品のアルコール濃度は清酒よりも高いのであるが、実際の飲用の場合ではお湯割り、水割りで飲まれることが多い。このことを考えると、清酒の飲用時のアルコール濃度は他の酒類と比較すると最も高いのではないかと思われる。

2. アルコール濃度の低い清酒の製造方法と問題点

清酒業界においてもアルコール濃度の低い酒の重要性は強く認識されており、既に多数の製品開発が行われてきた。しかし、消費者

KISO Kuniaki

〒739-0046 東広島市鏡山3-7-1

の嗜好に合ったアルコール濃度の低い酒の品質設計が困難であること、厳密な製造管理や製品管理を必要とするものが多く、安定した品質の製品が得られにくいこと等、技術的及びコスト的なネックもあったために普遍的な製品になれなかったと思われる。以下、各種の製造方法と問題点について述べる。なおアルコール濃度が13%未満の清酒をここではアルコール濃度の低い清酒とする。

(1) アルコール濃度の高い原酒に加水してアルコール濃度を下げる方法

この方法は製造が比較的簡便であり、従来の清酒の香味の良さを残し、飲みやすいタイプになる可能性がある。しかし、加水後の成分バランスを良く検討しないと、香味のバランスが悪くなり、味がうすくなる可能性もある。

この方法による品質設計例が白鶴酒造(株)から提案されており、アルコール濃度が7～10%の範囲の場合、酸度0.6～1.5、アミノ酸度0.3～0.8、エキス分3～6%であればアルコール濃度が10%以下の清酒でも「水っぽさ」や「くどさ」を感じさせず、しかも清酒本来の味わいを残した軽快な香味の酒質になるとしている¹⁾。

(2) 最初からアルコール濃度の低い原酒を製造する方法

もろみの発酵を途中で停止させたり、くみ水を増やしてアルコール濃度を下げる方法である。この方法は、味のうすさを克服する可

能性があるが、ダイアセチル、アセトアルデヒド等のオフフレーバーが発生しやすい。また、低いアルコール濃度のために品質の安定性、貯蔵性に疑問があると思われる。

くみ水を増やしてアルコール濃度を下げる方法の1例として、日本酒造組合中央会東京支部銘酒研究委員会による「純米やわくち」がある。この方法はもろみ途中で多量の追水と麴四段を行い、その後さらに低温で発酵を行うことで、アルコール濃度が12~13%であるのにもかかわらず、うま味があり、香味のバランスの良い清酒が可能であるとしている²⁾。

発酵力の弱い酵母を利用したアルコール濃度の低い原酒の製造の例としてアデニン要求性酵母による、いわゆる「桃色濁り酒」がある。アデニン要求性酵母はその増殖にアデニンを要求するために通常のもろみでは増殖が遅れ、その時に菌体内に赤色色素を蓄積するとともにアルコール濃度の低いもろみになる。このもろみから濁り酒を製造すれば、日本酒度-30、アルコール濃度11から12%、酸度3.0の香味の調和した「桃色濁り酒」が可能になる³⁾。

(3) 逆浸透膜等の物理的手段でアルコールを除去してアルコール濃度を下げる方法

この方法は、成功すれば味のうすさを克服する可能性もあるが、新規設備投資が必要であり、製造工程が複雑になる可能性がある。

逆浸透膜によるアルコール濃度の低い清酒の製造については、佐藤らが報告しており、アルコール濃度が8~9%でも、味の調和の

とれた軽いソフトな清酒が可能であるとしている⁴⁾。

以上のように、アルコール濃度の低い清酒の製造方法には各種の方法があることがわかる。

3. アルコール濃度が12%の清酒の検討

独立行政法人酒類総合研究所は、日本酒造組合中央会と共同で「従来の清酒と同様な香味を持ち、通常の清酒より少し低いアルコール濃度の12%程度でも香味の調和を保つことができ、味わって飲める酒質」をコンセプトに、かつ「技術的に全国の大部分の製造場で製造可能な清酒」を開発する目的で各種の検討を行った。

(実験1) 各タイプの清酒をアルコール濃度を12%に調整して、官能評価を行い、成分との関係を検討した(表1)。その結果、酸度、アミノ酸度、ピログルタミン酸、リン酸、コハク酸、クエン酸、フマル酸が少なく、三糖類が多く、甘く感じ、若く感じるものは総合評価が良く、エキス分、単糖類、二糖類が多く、熟しているものが濃く感じる傾向であった。

(実験2) エキス分、酸度、アミノ酸度の影響の確認を行うために、実験1で評価の良かった試料をグルコースと乳酸とでエキス分4.9~3.2、酸度1.4~0.7、アミノ酸度1.2~0.5

表1 実験に用いた市販清酒の一般成分値

成分名	平均値	最大値	最小値
アルコール分	15.6 (12.0)	18.5 (12.0)	13.7 (12.0)
日本酒度	+3.3 (+3.5)	+17.3 (+14.4)	-10.1 (-6.3)
エキス分	4.7 (3.6)	7.4 (5.4)	2.2 (1.7)
酸度	1.3 (1.2)	2.2 (1.6)	0.7 (0.6)
アミノ酸度	1.5 (1.2)	3.1 (2.2)	0.5 (0.4)

試料点数は28点、括弧内は加水後のアルコール分12度での成分値である。

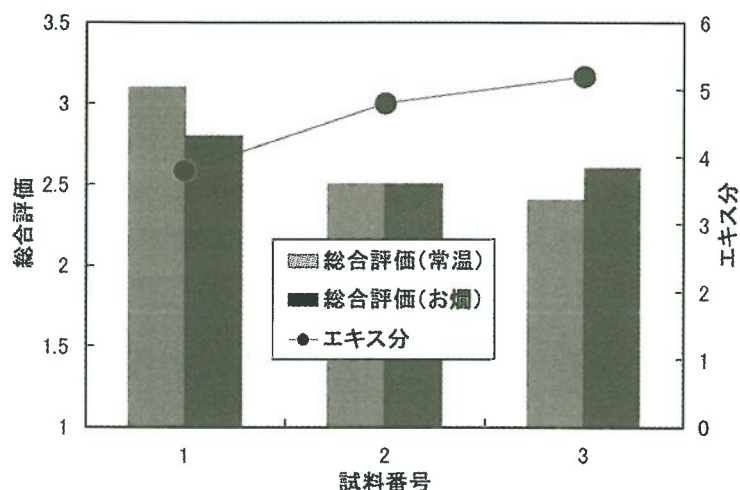


図1 総合評価（良1－5悪）とエキス分との関係

～1.0, アミノ酸度は1.2～0.9の範囲), 20℃(常温)と40℃(お燗)で官能評価を行った。

エキス分を5付近まで増加させると常温でもお燗でも総合評価が良くなっていることがわかった。しかし, エキス分を5を超えてさらに増加させても総合評価が良くならないこともわかる(図1)。

表2 アルコール濃度の低い清酒の目標成分値

成分	濃度範囲
アルコール分	12.0
日本酒度	-4程度
エキス分	5程度
酸度	1.4～0.7
アミノ酸度	1.2～0.5

にして官能評価を行った。その結果, 実験1で示唆されていたエキス分と味の濃さとの関係が確認された。さらにエキス分が多いと総合評価を良くすることもわかった。ところが実験1で見られた総合評価と酸度, アミノ酸度との相関は見られなかった。この理由として, 実験2の酸度, アミノ酸度濃度範囲が実験1に比べて狭いことが考えられた。しかし, このことは逆に考えると, アルコール濃度の低い清酒の開発のヒントになると思われる。

すなわち, アルコール濃度が12%程度の清酒では酸度, アミノ酸度とエキス分をある範囲にうまく調整すれば, 香味の調和のとれた清酒が可能であることを示唆している。

(実験3) エキス分の効果の再確認とお燗の影響の検討を行うために, グルコースと水飴でエキス分を5.3～3.8と変化させ(酸度は1.1

(結論) 実験1から実

験3までの結果を総合的に考えるとアルコール濃度が12%の場合, 表2の成分にすれば飲酒温度に関係なく, 香味の調和が保たれた清酒が可能であることを示していると思われる。

4. おわりに

以上のように, アルコール濃度の低い清酒の開発には種々の解決すべき課題があることがわかる。整理すると, 1つ目は, 低下したアルコール分を補う官能的な味のうすさの克服をどうすべきか。2つ目は, オフフレーバーではない製造方法の検討。3つ目は, 複雑になりやすい製造方法の簡素化。4つ目は, アルコール濃度の低下に伴い生じる品質安定性・貯蔵安定性の低下の改善等が考えられる。このように, アルコール濃度の低い清酒の開発には, 乗り越えるべき技術的な問題点が多く存在している。このため, 現在市販されている清酒の大部分のアルコール濃度は15%程度が多くなっていると考えられる。

最後になりましたが, 当研究所技術開発研究室の武宮重人主任研究員の本研究への多大な貢献に対して感謝いたします。

4 総説

文 献

1) 日本国特許 番号2598847「低アルコール清酒」, 1997年1月9日登録

2) 日本酒造組合中央会東京支部銘酒研究委員会 (1979), 醸協, 74, 61-63

3) 石川雄章ら (1984), 醸協, 79, 691-694

4) 佐藤信ら (1983), 醸協, 78, 641-646

生研機構からのご案内

融 資 制 度 の ご 案 内

制度の概要

貸付利率を低減する一般融資制度と、貸付元本を減免する特別融資制度があります。

融資対象者

民間企業、農林漁業団体、公益法人。ただし特別融資は資本金10億円未満の研究開発型企業です。

対象試験研究

生物系特定産業技術に関する応用研究段階または事業化に結びつく可能性の高い試験研究で、試験研究期間は5年以内です。

融資限度額

研究期間中の各年度ごとに、対象試験研究費の7割を限度としてご融資いたします。

貸付対象経費

試験研究に必要な施設設備費・試験ほ場造成費・物品費・材料費・労務費・外注費など。

貸付条件

- (1) 貸付方法：試験研究終了までの間、支出済み経費に対して貸付
- (2) 基準利率：貸付時点の財政融資資金貸付金利に相当する率
- (3) 償還期間・方法：試験研究終了後10年以内。原則として元金均等年2回分割償還
- (4) 据置期間：研究期間中は元金の償還を据置き。研究期間中は利息を据置くことも可能
- (5) 担保・保証人：原則として必要
- (6) 売上納付金契約：試験研究の成果を事業化した場合、その売上高の一定割合を納付
(特別融資制度のみ)

本資金のメリット

◎研究開発のリスク軽減のために、試験研究の成功度合いに応じて、
利率を低減〈低減率は最大100%〉または元本を減免〈減免率は最大50%〉

一般融資の場合

適用利率 = 基準利率 × 成功度 (1, 0.75, 0.5, 0.25, 0 のいずれかの数値)

特別融資の場合

返済元本 = 貸付金額の1/2 + 貸付金額の1/2 × 成功度

◎最長15年の長期・低利(固定制)の資金です。

◎研究によって得られた特許権等、研究成果はすべて融資先企業に帰属します。

詳細は窓口にお気軽にお問合わせ下さい。

生研機構 融資課 〒105-0001 東京都港区虎ノ門3-18-19 虎ノ門マリビル10F
TEL 03-3459-6565 FAX 03-3459-6566 E-mail yushi@tokyo.brain.go.jp

◀国内情報▶

酸性土壌における生産性の向上をめざして —アルミニウム耐性機構と耐性遺伝子の解析—

岡山大学 資源生物科学研究所
松本 英明 ・ 佐々木 孝行

作物が生育しにくい問題土壌と呼ばれているものの一つに酸性土壌があり、世界の農耕地の30～40%を占める。酸性土壌ではアルミニウム (Al) が溶け出し、植物根の生育を著しく阻害する。従って酸性土壌を有効に使うため生産性を高めるため、Alストレスに打ち克つ耐性機構の解明が進められ、最近、コムギにおける重要なAl耐性遺伝子 (ALMT1) が発見され、その更なる解析と有効利用が進められている。

1. 酸性土壌

世界の生物生産に利用される土壌の約70%はいわゆる問題土壌である。そのうち酸性土壌は熱帯、温帯の農耕地の30～40%を占め、その面積は3.95億ヘクタールといわれている。酸性土壌は世界中に広く分布するが、アジア、アフリカ等の発展途上国に多く存在し、このような地域では人口増が著しいので、発展途上国においてこそ酸性土壌の利用が必要である。一般的な酸性土壌の生成は土壌の風化作用の結果である。何千万年という時間をかけて土壌が雨水にさらされた結果、雨水中のプロトンと土壌中の可溶性の栄養塩類 (塩基) が交換し、塩類が溶脱され酸性土壌が生成される。従って、酸性土壌は貧栄養の土壌である。

2. アルミニウム (Al) 毒性

酸性土壌の植物の生育阻害となる最も大きな因子は、酸性化に伴って溶解するAlである。Alは土壌を構成する金属元素として最も多く約7%を占めている。中性ないし弱酸性の土壌ではAlは不溶性の珪酸アルミニウムや酸化物として存在する。しかし土壌が酸性になるに従いイオンとして溶け出す。Alイオンの形態はpHによって異なり、pH4.5以

MATSUMOTO Hideaki, SASAKI Takayuki

〒710-0046 倉敷市中央2-20-1

下では大部分が Al^{3+} として存在し最も毒性が強い。従って酸性土壌での生産性を高めるには、石灰をまき土壌を中和しAlの溶解を抑制することである。しかしこの方法は限られた面積では可能であるが、広大な耕地を中和することは不可能であり、新たな環境破壊を生むことになる。従って作物自身に酸性 (Al) 耐性の機能を付与することが望ましい。

3. アルミニウム (Al) 障害

Al障害の機構は十分に解明されていない。Alによる根伸長阻害が誘発される過程でリグニン、カロースの蓄積、活性酸素類の発生とミトコンドリアの機能障害、原形質膜機能の障害と脂質過酸化、微小管の崩壊、細胞分裂阻害等が報告されている¹⁻³⁾。

Al感受性のコムギやアラスカエンドウを5～10 μ M程度の Al^{3+} (pH4.5)で処理すると、短時間で根の伸長が抑制される。Alが集積する部位と障害を受ける部位は根端に限られる。Alは根端の表層の細胞に集積し、伸長域の細胞の縦方向の伸長が阻害され、逆に横方向に肥大した細胞になる。その結果、根の外側に向かって内側の細胞から圧力が加わり、根の表皮細胞に亀裂が生じる²⁾。Alは根端に集積するが、Al耐性コムギはAl感受性コムギに比べて明らかに少ない。このことは a) 根端におけるAl集積量の違いはAlに対する感受性に関係する、b) 根の伸長阻害は根

端に集積するAlの含量に関係する, c) Al耐性種は根端にAlを集積しない機構を持つ。これらの事実から, Al耐性の主要な機構としてAlを根に取り込まない, いわゆるAl排除機構 (exclusion mechanism) が最も重要なものとして知られ解析が進んでいる。ここではコムギの準同質遺伝子系統を用いた成果を述べる。排除機構というのは取り込まれたAlを排出するのではなくAlストレスにより根から分泌した有機酸が根圏のAl³⁺とキレート結合を形成し, 根内にAlを取り込まない戦略のことである。植物種により分泌する有機酸は異なるが, これまでに得られた知見からAl排除機構の重要さが理解出来る。

(1) Al耐性種ではAl濃度に比例してクエン酸やリンゴ酸を分泌するが, 感受性種では認められないか, 非常に小さい。(2) Al耐性インゲンはAlが存在すると, しない場合の70倍ものクエン酸を分泌する。(3) Al耐性を異にする36種のコムギについて調べた結果, Al耐性とリンゴ酸分泌量の間には正の相関を認めた。(4) Al感受性コムギをAl処理する際に有機酸を共存させるとAl障害が抑制される。(5) 有機酸の分泌はAlの集積により障害を受ける根端から特異的に分泌される。(6) 有機酸の分泌は多くの植物でAlに特異的であり, 他の3価のカチオンでは認められない。(7) トウモロコシ根を一定のAlに対し漸増的にシュウ酸を加えた溶液で処理すると, 根中のAl集積量はシュウ酸の量に従って減少した。

これらの事実は有機酸分泌が主に単子葉植物におけるAl耐性機構の最も重要なものとして考えられ, その分泌機構とそれを支配する遺伝子の解明をめぐる熾烈な競争が繰り返されてきた。分泌機構については, 阻害剤の実験から有機酸チャンネルによると考えられてきたが, 最近単離膜やホールセルパッチによりAlで制御を受ける有機酸チャンネルの存在が証明された⁴⁾。チャンネルの開閉はAlで制御されるが, 直接Alがチャンネルに作用するか, シグナル変換を経るのか不明であるがタンパク質リン酸化が関与する可能性がある⁵⁾。我々は準同質遺伝子系統のAl耐性

コムギ (ET8) と感受性コムギ (ES8) を用いて, リンゴ酸分泌を制御するトランスポーター (*ALMT1*: aluminum activated malate transporter) の遺伝子を最近発見した⁶⁾ (Sasaki et al., 投稿中)。ET8とES8はAl耐性コムギと感受性コムギを8代にわたって交配を行い, Alによってリンゴ酸を分泌出来るET8と出来ないES8という特質以外の同一の遺伝的特質を持っていると考えられている。従って, このリンゴ酸分泌を制御する遺伝子はAlt1と名付けられ, その実体の解明が望まれていた。

4. ET8の根端で特異的に発現している遺伝子の単離

サブトラクション法により, ET8からES8よりも明らかに高い発現を示すcDNAを得た。この発現はAl処理と無関係で構成的であった。*ALMT1*はET8で強く, ES8で弱く発現している他, アミノ酸コード領域内で核酸で6塩基, アミノ酸で2塩基の違いを認め, Al耐性のものを*ALMT1-1*, 感受性のものを*ALMT1-2*とした (図1)。ノーザン解析からAl耐性コムギ (ET8, Atlas 66) では*ALMT1-1*が大量に, Al感受性コムギ (ES8, Scout 66) では*ALMT1-2*が弱く発現していた。またAl耐性 (根の伸長) やリンゴ酸分泌量が耐性種と感受性の中間を示すchinese springでは, *ALMT1-2*のみが耐性種の*ALMT1-1*と感受性種の*ALMT1-2*の発現量の中間を示した。

この*ALMT1*のコードするタンパク質の機能を解明するため, Alによってリンゴ酸を殆ど分泌しないイネに*ALMT1*を導入した形質転換イネがAlによりリンゴ酸を分泌することを確認した (図2)。また形質転換イネのリンゴ酸分泌は, 同じ3価のイオンであるLa³⁺では起こらずAlのみで認められた。イネは有機酸分泌以外の機構によるAl耐性の強い植物と考えられており, 残念ながら形質転換イネはAl耐性を示さなかった。一方, タバコ培養細胞に*ALMT1*を導入するとリンゴ酸を分泌し, その結果, 細胞内へのAlの取

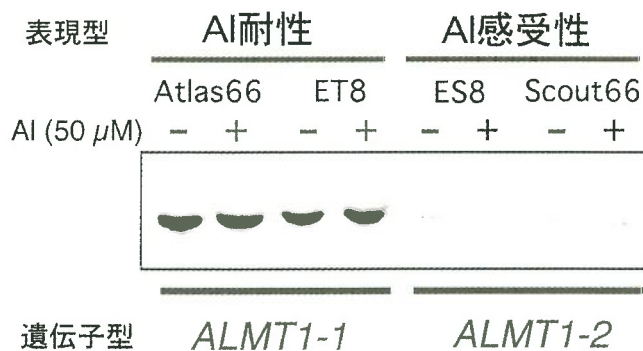


図1 AI耐性の異なるコムギ品種間におけるALMT1発現と遺伝子型の相違

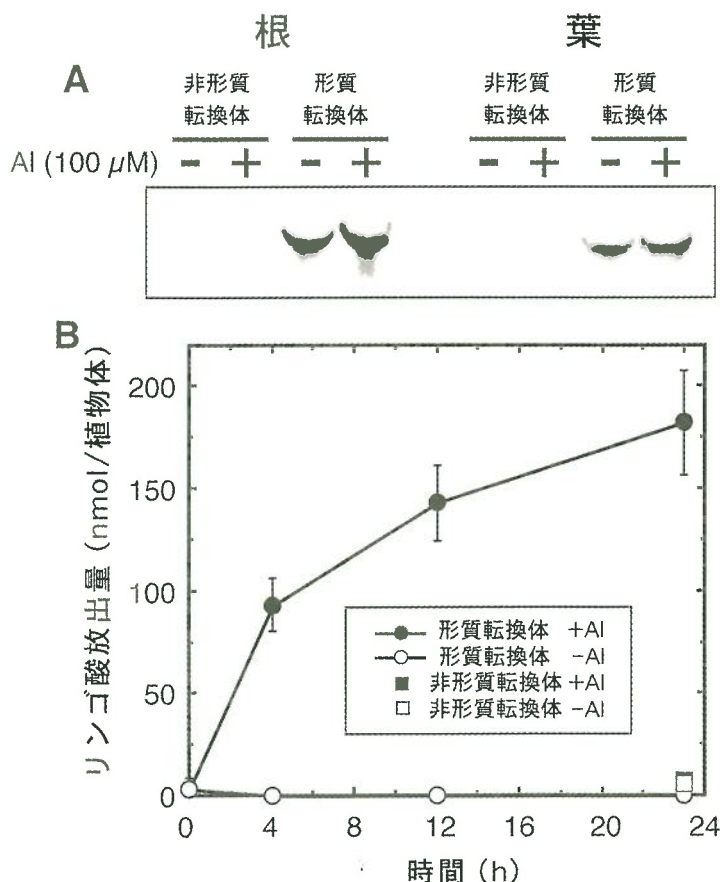


図2 ALMT1-1 形質転換イネにおける遺伝子発現 (A) とリンゴ酸放出活性 (B) の比較。

形質転換体と非形質転換体 (日本晴品種) との比較を示した。リンゴ酸放出測定時にイネを100μM AlCl₃ 処理した。

り込みが減少し、細胞生育量で調べてみるとAI耐性を示した。

5. ALMT1のリンゴ酸トランスポーターとしての機能

アフリカツメガエルの卵母細胞にALMT1のcRNAを注入してタンパクを合成させ、さらにリンゴ酸またはクエン酸を注入した後、卵母細胞外液にAIを添加して二電極膜電位固定法を行うと、cRNAとリンゴ酸を注入した卵母細胞にAIを添加した場合のみ顕著なリンゴ酸の輸送活性を認めた (図3)。またALMT1-1とALMT1-2のcRNAを用いて内向き電流の発生を比較すると、前者

は後者よりも強かった。従ってAI感受性コムギのリンゴ酸分泌の小さい原因はALMT1-2の発現量が小さいことと、そのコードするタンパクのリンゴ酸トランスポーターとしての機能の弱さの両方に原因がある。アフリカツメガエルの系でもLa³⁺やFe³⁺ではリンゴ酸分泌が起こらず内向き電流の発生は認められなかった。またリンゴ酸の代わりにクエン酸を注入しても電流発生は認められなかった。これらの特性は根端でAIによって原形質膜を介してリンゴ酸を輸送するリンゴ酸トランスポーター (恐らくチャンネル) そのものの性質であることを示唆している。

さらにALMT1遺伝子がAI耐性遺伝子である

可能性をETとESの掛け合わせで得られた種子の連鎖分析や遺伝子の多型パターンのゲノムサザン解析およびゲノムPCRで検討した結果、AI耐性コムギではALMT1-1のホモおよびヘテロの遺伝子型であり、AI感受性コム

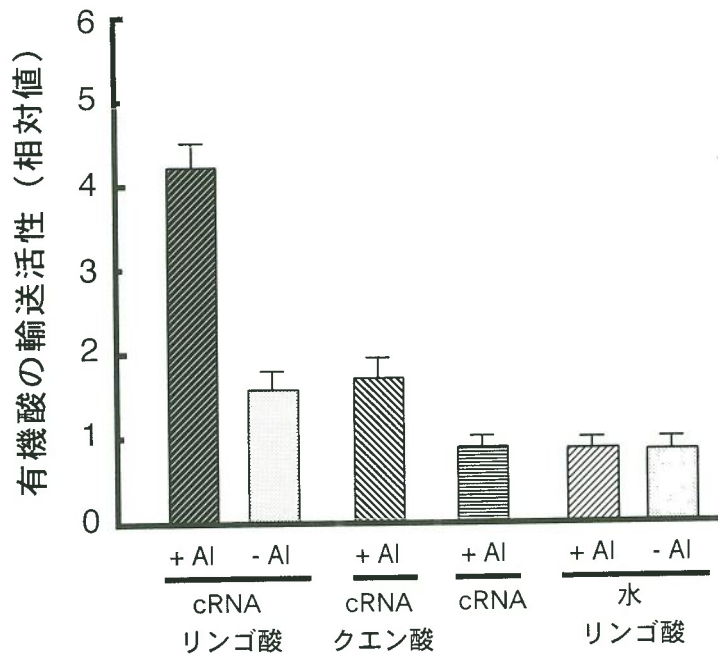


図3 ALMT1タンパク質の有機酸輸送活性へのAlの有無および有機酸種の影響

アフリカツメガエル卵母細胞にALMT1のcRNAを注入してタンパクを発現させ、さらにリンゴ酸又はクエン酸を注入した後、細胞外液 (pH4.5) に0.1mM Alを添加して二電極膜電位固定法により測定を行った。

ギはALMT1-2をホモに持つことが分かった。

6. おわりに

植物は動物と異なり、移動によってストレスから回避することは出来ない。植物は根から有機酸を分泌し、そのキレート作用にもとづいて根圏で不溶性の栄養塩類を可溶化したり、Alのような毒性イオンを無毒化するという面で、その果たす役割は極めて大きい。ここで紹介したAlで特異的にリンゴ酸を分

泌するトランスポーターをコードする遺伝子ALMT1は、今後、その形質転換体の作出により、植物根のストレス耐性機能の解析や酸性土壌における食糧生産の増大に関して大いに貢献が期待されるものである。

なお、本稿で紹介した研究成果は農林水産省生研機構「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」(平成10年度採択課題)により得られたものである。記して感謝する。

文献

- 1) Kochian, L.V.(1995), *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 46, 237-260
- 2) Matsumoto, H. (2000), *Int. Rev. Cytol.*, 200, 1-46
- 3) Yamamoto, Y. et al (2001), *Plant Physiol.*, 125, 199-208
- 4) Zhang, W-H. et al (2001), *Plant Physiol.*, 125, 1459-1472
- 5) Osawa, H. and Matsumoto, H. (2001), *Plant Physiol.*, 126, 411-420
- 6) 松本英明, 佐々木孝行 (2003), 植物細胞工学シリーズ18, 142-145, 秀潤社

◀国内情報▶

果樹のDNA鑑定

独立行政法人 農業技術研究機構 果樹研究所

山 本 俊 哉

親子鑑定や正確な品種判別に適しているSSRマーカーを、モモで44種類、ニホンナシで41種類開発した。開発したモモSSRマーカーを用いて、交雑育種で育成されたモモ9品種、枝変わり3品種、偶発実生由来5品種の親子鑑定を行った結果、交雑育種由来の9品種では、すべて親子の関係が正しいことが確認された。枝変わり品種のうち、「日川白鳳」は、原品種の「白鳳」と異なるSSR対立遺伝子を持っており、枝変わりではなかった。さらに、SSRマーカーを用いて、日本の生食用モモ品種の由来を解析したところ、明治初期に中国から導入された「上海水蜜桃」の子孫であることが明らかとなった。約20種類のSSRマーカーを用いて、ニホンナシやセイヨウナシ合計14品種の親子鑑定を行った結果、「幸水」をはじめとする10品種では親子関係にあることが再確認された。その他の4品種では、片親もしくは両親が記述されている来歴と異なっていた。今後、本技術はモモやナシをはじめバラ科に属する果樹において、品種名の不当表示を抑制する手段、外国からの不法輸入を防止する手段、品種登録や権利侵害でのトラブルを解決する技術として期待される。

1. はじめに

果樹類では、長年月の栽培中に形質が変化した「枝変わり品種」が数多く知られているが、実際には枝変わり由来ではないものも数多く混在している。また、接ぎ木等のクローン増殖の際の取り違いなどにより、異名同種（異なる品種名が付けられているが形態や特性が全く同一である品種）、同名異種（同じ品種名が付けられているが形態や特性が異なっている品種）が数多く知られている樹種もあり、品種名が混乱している。また、由来の不明な偶発実生品種（自然交雑等により得られた品種）も数多く存在している。果樹ではRAPDやAFLP等のDNA分析技術が品種識別に利用されてきた。しかし、これらの従来技術では、高い信頼度が要求される場面での利用が困難であるため、親子鑑定、正確な品種判別、品種の由来を同定する技術は未だ確立していなかった。

モモやナシをはじめとする果樹類は、品種と産地によるプレミア性が高い作物である

YAMAMOTO Toshiya

〒305-8605 つくば市藤本2-1

が、果実の外観での識別が困難な場合が多い。果樹の生産や販売・研究に従事する専門家でも、果実外観からの正確な品種鑑定は困難である。このため、産地、流通、販売等の現場サイドで、科学的な品種判別技術の開発が強く要望されている。

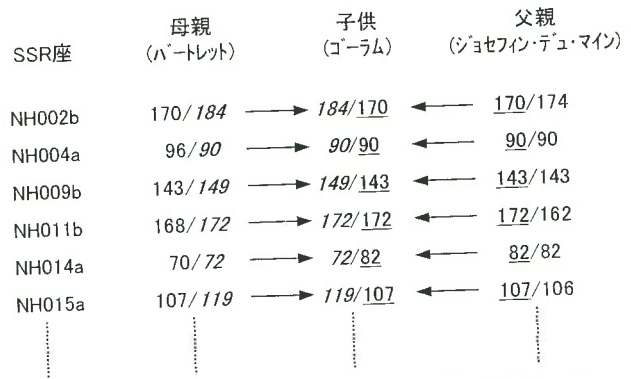
そこで、果樹研究所は、種苗管理センターとの共同研究によって、信頼度が高く、識別能力も高い新しいDNAマーカーを開発し、モモとナシで親子鑑定や品種判別技術を確立した。今後、果実から品種名を同定する高度な判別技術確立のための第一歩である。

2. 果樹のSSRマーカー

果樹用親子鑑定マーカーとして、SSRマーカーをモモで44種類、ニホンナシで41種類開発した。SSRとは、Simple Sequence Repeat = 単純反復配列の略で、マイクロサテライト、VNTR (Variable Number of Tandem Repeat), STR (Short Tandem Repeat) とほぼ同義である。ヒトの親子鑑定、DNA鑑定で実用的に利用されている信頼度の高いDNAマーカーである。1塩基から数塩基の

長さのDNAが繰り返しているSSR領域を挟み込むように両側にプライマーを設計し、PCRによる増幅と電気泳動によって、DNAの繰り返しの数=反復数の違いを、長さの差として検出する。SSRマーカーの特徴は、①多型性が高く近縁のものでも差異が得やすいこと、②ゲノム中に豊富に存在すること、③共優性の遺伝様式を示すこと、④反復数が変異に富んでおり対立遺伝子数が多いこと、⑤微量のサンプルで分析が可能であること、⑥DNAシーケンサーなど自動分析に適していることが挙げられる。

親子鑑定の原理は、ゲノム中の単一座における対立遺伝子の片方が、必ず親から子供に遺伝することである。図1は、セイヨウナシ品種「ゴーラム」とその両親品種「パートレット」、「ジョセフィン・デュ・メイン」の親子鑑定の例であるが、6つのSSR座で、両親の対立遺伝子の片方が矛盾なく子供に伝わっている。偶然一致する確率が有意に小さくなるまで（ヒトの場合は0.2%以下）SSR座を増やして、解析する。一方、1-2以上の座で矛盾が生じた時に親子関係が否定される。



偶然一致する確率が有意に小さくなるまで(ヒトの場合は0.2%以下) 遺伝子座の数を増やして分析=親子である

図1 親子鑑定の原理

親子鑑定の原理。各SSR座の対立遺伝子のサイズ (bp) を示す。母親であるパートレットの片方の対立遺伝子 (斜字体で示す) と父親であるジョセフィン・デュ・メインの片方の対立遺伝子 (下線で示す) が、子供のゴーラムに矛盾なく伝わっている。

SSRマーカーを利用することによって、初めてモモやナシの親子鑑定が可能となった。モモから開発したSSRマーカーは、モモ以外に、スモモ、ウメ、アンズ、オウトウ、アーモンド、サクラ等のバラ科サクラ属植物に利用可能である。また、ニホンナシから開発したSSRマーカーは、セイヨウナシ、チュウゴクナシ、リンゴ、ビワ、カリン、マルメロ等バラ科ナシ亜科果樹に利用できることから、今回開発したSSRマーカーが、日本の果樹生産

表1 モモの親子鑑定結果

品種名	育種方法	親の組合せ (原品種)	SSR分析結果
白鳳	交雑育種	白桃 x 橘早生	親子である
あかつき	交雑育種	白桃 x 白鳳	親子である
ゆうぞら	交雑育種	白桃 x あかつき	親子である
さおとめ	交雑育種	白鳳 x ロビン	親子である
ちよひめ	交雑育種	高陽白桃 x さおとめ	親子である
よしひめ	交雑育種	あかつき x 21-18	親子である
まさひめ	交雑育種	あかつき x 21-18	親子である
あきぞら	交雑育種	西野白桃 x あかつき	親子である
なつおとめ	交雑育種	あかつき x よしひめ	親子である
暁星	枝変わり	あかつき	枝変わりの可能性大
日川白鳳	枝変わり	白鳳	枝変わりではない
長沢白鳳	枝変わり	白鳳	枝変わりの可能性大
阿部白桃	偶発実生	白桃 x 大久保	白桃と大久保の子である
川中島白桃	偶発実生	上海又は白桃 x ?	白桃の子である
高陽白桃	偶発実生	白桃 x ?、白桃の枝変り	白桃の子である
清水白桃	偶発実生	白桃 x ?	白桃の子である
秀峰	偶発実生	白桃、倉方早生、興津由来	白桃、倉方早生の子ではない

の約半分を占める果樹で、品種判別や親子鑑定に利用可能である。

3. モモのDNA鑑定結果

交雑育種で育成された「白鳳（はくほう）」、「あかつき」、「ゆうぞら」、「さおとめ」など9品種、枝変わり由来の「暁星（ぎょうせい）」、「日川白鳳（ひかわはくほう）」、「長沢白鳳（ながさわはくほう）」の3品種、「阿部白桃（あべはくとう）」、「川中島白桃（かわなかじまはくとう）」、「高陽白桃（こうようはくとう）」など偶発実生由来5品種の合計17品種の親子鑑定を行った（表1）。17種類のSSRマーカーを使って親子鑑定を行った結果、交雑育種により育成された9品種では、すべて親子の関係が正しいことが確認された。「白鳳」の枝変わり2品種のうち、「長沢白鳳」は原品種の「白鳳」と全く同じ遺伝子型を持っていたことから、枝変わりの可能性大と判断された。一方、「日川白鳳」は「白鳳」と異なるSSR対立遺伝子を持っており、枝変わりではなく、また親子の関係もないことが明らかとなった。この他、現在解析中の多数の枝変わり品種でも、由来が間違っていることがわかってきた。偶発実生由来の品種のうち、「阿部白桃」、「川中島白桃」、「高陽白桃」、「清水白桃」は、「白桃」の子であること、「秀峰」では由来が間違っていることが示唆された。

4. 日本の栽培モモの由来

日本の生食用モモ品種のほとんどが、「白桃」の子もしくは「白桃」の血を引いている。「白桃」の親は、明治の初期に中国から導入された「上海水蜜桃（しゃんはいすいみつとう）」ではないかと言われているが、不明であった。そこで、40種類以上のSSRマーカーを用いて両者の親子関係を分析した結果、

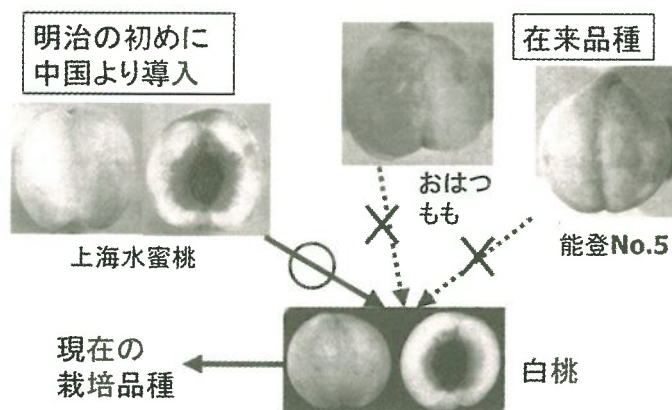


図2 現在の栽培モモ品種の由来

「白桃」と「上海水蜜桃」は親子関係にあることがわかった。このことから、「上海水蜜桃」が現在の日本の生食用モモの起源品種であることが示唆された（図2）。白い果肉が成熟するととろける様に軟化し果汁がしたたる、そんな果実形質を持つ「上海水蜜桃」は、欧米でも品種改良に用いられた。以上のように、現在の栽培モモは、桃太郎の時代のモモ＝在来モモ品種に由来するのではなく、特定の中国品種起源であることが明らかとなった（図2）。

5. ナシのDNA鑑定結果

約20種類のSSRマーカーを用いて、ニホンナシやセイヨウナシ合計14品種の親子鑑定を行った。その結果、ニホンナシ品種「幸水（こうすい）」、「祇園（ぎおん）」、「新世紀（しんせいき）」、セイヨウナシ品種「オーロラ」、「バラード」、「ゴーハム」、「ピエールコルネイユ」、種間雑種品種「太平洋（たいへいよう）」、「二宮白梨（ニノミヤバイリー）」、「甘玉（かんぎょく）」の10品種では親子関係にあることが再確認された。「豊水（ほうすい）」、「丹沢（たんざわ）」、「大原紅（おおはらべに）」、「二宮（にのみや）」の4品種では、片親もしくは両親が記述されている来歴と異なっていた。「豊水」は、「リー14」×「八雲（やくも）」から育成された（現在では形態等の矛盾から両親不詳）が、7つのSSRマーカーで親子としての不一致が認められた。「丹

沢」では、その両親とされていた「長十郎(ちょうじゅうろう)」と「二十世紀(にじっせい)」の両方が親ではなかった。

6. 今後の展望

アジア諸国では日本で育成された品種が数多く栽培されており、果実の輸入に伴い、品種名や産地の不当表示、不法な輸入、さらに国内の果樹産業が圧迫されることが危惧される。また、品種登録や権利侵害でのトラブルも増加している。本技術は、モモやナシをはじめバラ科に属する果樹の品種名の不当表示を抑制する手段として期待できる他、外国からの果実に対し、品種育成者の権利を侵害する不法輸入を防止する手段として有効であ

る。さらに、本メーカーは、品種登録や権利侵害でのトラブルを解決する技術として期待される。実際のモモとナシでの親子鑑定の結果では、従来から知られている親子関係を覆す興味深い結果も得られており、今後の活用が期待できる。

現在までに、葉や生の果実から、純度の高いDNAを抽出・単離する技術が確立している。一方、近い将来輸入の増大が予想され、また各種の問題が生じると考えられる果実加工品からのDNAの単離方法は、確立していない。今後、缶詰、乾燥果実、ジャム、果汁、梅干し、果実酒などの加工品から、DNA分析が可能なDNA抽出の技術開発が期待される。



ブレインテクノニュース

バックナンバーのご案内
第97号

2003年7月15日発行

総説

昆虫テクノロジー研究について……………川崎建次郎

国内情報

絹糸中に生理活性タンパク質を産生する組換えカイコの作出……………山田勝成・田中 貴・平松紳吾・田村俊樹
植物が生産した薬効成分を特異的器官・細胞に蓄積する分子機構……………土反伸和・佐藤文彦・矢崎一史
抗生物質耐性遺伝子を使わない新しい遺伝子組換えイネ選抜技術の開発……………大島正弘
家畜における卵胞閉鎖抑制・発育促進技術の開発と卵成熟誘起機構の解明……………佐藤英明・清水 隆・横尾正樹

海苔の粘質多糖・ポルフィラン

……………濱 洋一郎・常田尚正・杉本良子・常岡 史・小谷正幸・墨 利久

高精度水田用除草機の開発……………宮原佳彦

地域の先端研究

魚油の生物学的脱臭法—パン酵母を用いる新しい方法……………檜山圭一郎

文献情報

マウスおよび霊長類胚性幹細胞からの末梢神経系ニューロンおよび床板細胞への分化誘導……………(抄訳：下司雅也)
酵母のエタノール耐性はオレイン酸に依存する……………(抄訳：澤田大輔)
あいた口がふさがらない話……………(抄訳：岩井純夫)
イネにおける分けつの制御……………(抄訳：丸尾喜宏)

海外便り

パラグアイのダイズ生産と研究……………
—地域農業研究所センターにおける2年間—……………豊田政一

◀国内情報▶

デシケータ法を利用した木質建材からの 放散アセトアルデヒドの簡易測定法

独立行政法人 森林総合研究所 複合材料領域 積層接着研究室
塔村真一郎・井上明生・宮本康太

建築基準法の改正により、ホルムアルデヒドを放散する建材に対して使用規制が設けられた。今後はアセトアルデヒド等のその他の揮発性有機化合物（VOC）についても規制が拡大することが予想される。しかし、木質建材に関してのアセトアルデヒド放散量試験は確立されておらず、データはまだ少ない。筆者らは合板等の日本農林規格（JAS）におけるホルムアルデヒド放散量試験であるデシケータ法を利用して、木質材料から放散されるアセトアルデヒドを簡便に測定する方法を見いだした。

1. はじめに

住宅内の様々な化学物質が原因で体調不良を引き起こす、いわゆるシックハウス症候群は、90年代以降社会問題となっている。1997年に我が国で初めてホルムアルデヒドの室内濃度指針値が厚生労働省によって策定されて以来、2002年1月までにアセトアルデヒドを含む13物質の室内濃度指針値が策定されてきた¹⁾。このうちホルムアルデヒドについては、防腐剤のクロルピリホスとともに2002年7月に建築基準法の改正によって規制対象となることが決まり、2003年の7月1日より施行された。主な改正点であるホルムアルデヒド放散材料の使用制限と換気施設設置の義務化は世界に先駆けた非常に厳しい規制である。このようにホルムアルデヒドについては法的な対策が進んでいるが、アセトアルデヒドやトルエン、キシレン等の揮発性有機化合物（VOC）についても今後規制化の動きが進むことが考えられる。

アセトアルデヒドについては2002年1月に厚生労働省から室内濃度指針値 $48\mu\text{g}/\text{m}^3$ （0.03ppm）が出されているものの、室内への放散実態や、発生源についてほとんどわかっていない。またホルムアルデヒドが木材用

TOHMURA Shin-ichiro, INOUE Akio,

MIYAMOTO Kohta
〒305-8687 つくば市松の里1

接着剤に含まれている原料物質の一つであることが明らかであるのに対し、アセトアルデヒドは発生原因が未だに特定できていないことも対策を難しくする要因である。アセトアルデヒドは工業的には酢酸などの製造に用いられる重要な化合物であるが、一般には酒類などエタノールの代謝過程において体内で生成し、いわゆる二日酔いの原因物質として知られている。またタバコの煙²⁾や木材の薫煙³⁾、大気中や自動車の排ガスからも検出されている⁴⁾。人体への影響は、目、肌、呼吸器系に刺激を感じ、高濃度の場合は麻痺や死に至る。発ガン性についてはIARC（International Agency for Research on Cancer：国際がん研究機関）のランクでは2B（ヒトに対して発ガン性がある可能性は低い）と低レベルの危険性を示す。

したがって、建材として住宅に使われる個々の材料から放散するアセトアルデヒドのデータを蓄積し、原因究明していくことが急務であるが、現状では木質建材の日本農林規格（JAS）および日本工業規格（JIS）にアセトアルデヒド放散量試験が定められていないため、実態はほとんど把握できておらず、木質建材からのアセトアルデヒド放散量に関する簡易な試験法を開発することが緊急課題となっている。

以上のことを踏まえ、筆者らは分析法に最近2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（2,4-

DNPH) 溶液によるヒドラゾン誘導化と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いることによって、ホルムアルデヒド放出量の JAS規格およびJIS規格試験であるデシケータ法によって採取されたサンプル水中のアセトアルデヒドを簡易に定量する方法を見いだした³⁾。本稿ではその概要を記す。

2. 放散アルデヒド類の測定法

今回の国土交通省による建築基準法改正におけるホルムアルデヒド発散材料は、建材から発散されるホルムアルデヒドの発散速度の値によって行われる。発散速度 (放散速度ともいう) というのは材料表面積 1 m²あたり 1 時間に何 μg のホルムアルデヒドを発散するかという指標である。この発散速度の測定に採用されているのが、2003年 1月に新しく制定された JIS A 1901 の小形チャンバー法である。小形チャンバー法は、実際の室内を想定して温度、湿度、換気量をコントロールできる装置 (小形チャンバー) で、チャンバーの出口に捕集管を取り付けることによって、材料から放散する気中の化学物質を採取することができる。通常アルデヒド類の捕集には 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) でコーティングされたシリカゲルカートリッジを利用する。しかし、小形チャンバー法は装置が高価であり、測定にも通常 1 週間～3 週間を要する。

一方、すでに合板および木質ボード類の JAS規格および JIS規格に規定されているデシケータ法は、ガラスデシケータ中に試料と水を入れておき、24時間 20℃の部屋に放置して放散するホルムアルデヒドを水に吸着させ、この水中のホルムアルデヒド量を比色定量する方法である。デシケータ法は簡便かつ安価であるため、JASやJIS製品のホルムアルデヒド放散グレー

ド付けに用いられるだけでなく、木質接着製品の品質管理等の手段として広く受け入れられている。今回の建築基準法改正に伴う JAS および JIS規格の改正においても、デシケータ法は引き続き木質建材からの放散ホルムアルデヒド試験法として採用されている。

しかしながら、現行のデシケータ法で採用されている比色分析 (アセチルアセトン法) は、測定対象がホルムアルデヒドに限定されるため、アセトアルデヒドの定量には適用できない。デシケータ法で採取されたサンプル水中には、ホルムアルデヒド以外のアルデヒド類も捕捉されているはずであり、これらを分析することができれば一度のサンプリングでアルデヒド類全てのデータを得ることができる。

そこで、筆者らは分析法として 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (2,4-DNPH) 溶液によるヒドラゾン誘導化と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を採用した、アセトアルデヒドや他のアルデヒド類を分析する方法 (DNPH-HPLC法) について検討した。

3. 反応条件および定量性の検討

まず所定濃度に調製したアセトアルデヒド

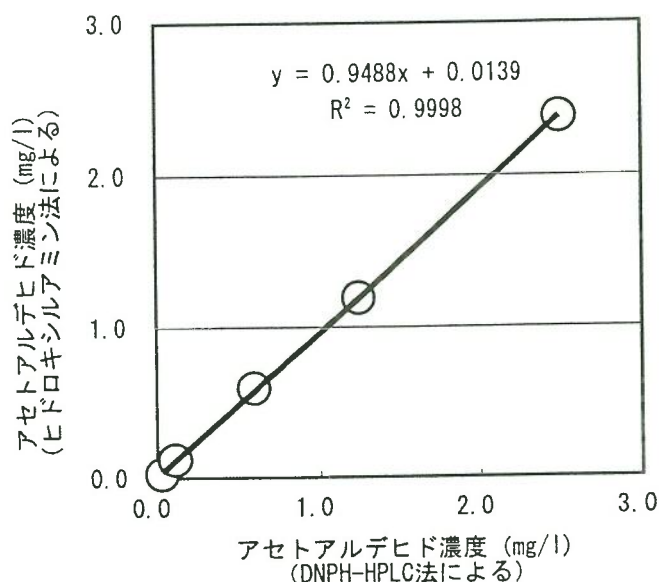


図1 アセトアルデヒド定量におけるヒドロキシルアミン法とDNPH-HPLC法の相関

水溶液について滴定法である塩酸ヒドロキシルアミン法⁶⁾を用いて定量し、今回のDNPH-HPLC法での定量値との比較を行った。その結果、両者のアセトアルデヒド値は極めて良く一致し(図1)、本法により水溶液中のアセトアルデヒドを正確に定量できることがわかった。次に本定量法におけるサンプル溶液とDNPH溶液との量比を検討したところ、サンプル溶液/DNPH溶液比(ml/ml)が0.5~10の何れの比でもDNPHが過剰であれば、定量性に問題ないことがわかった。また反応後長時間放置したり、過熱したりしても測定値に変化がなかったことから、誘導体化反応は室温で速やかに完了するものと思われる。

4. 各種建材への適用

ホルムアルデヒド系接着剤で接着された市販の各種木質建材をデシケータ法測定に供し、得られたサンプル水に対してDNPH-HPLC法を適用した例を図2に示す。従来デシケータ法ではホルムアルデヒドしか測定できなかったが、本測定法によりアセトアルデヒドやその他のカルボニル化合物の定量が可能となった。現在のところアセトアルデヒドの発生源や放散ホルムアルデヒド量との関係は不明であるが、本法を利用したデータの蓄積によってそれらのことが解明されることが期待される。新規測定法によるホルムアルデヒドの値について従来のアセチルアセトン法と比較したものを図3に示す。中密度繊維板(MDF)においてややばらつきが見られるものの、両者は概ねよく

一致した。デシケータサンプル中には、多様なカルボニル化合物が存在すると考えられるが、図1, 2の結果から明らかのように、本法によってアセトアルデヒドだけをほぼ正確に定量できる。

5. 非ホルムアルデヒド系接着剤への適用

この方法のもう一つの大きな特徴は、非ホルムアルデヒド系接着剤すなわちホルムアルデヒドを原料として含まない接着剤から放散されるアルデヒド類についてデシケータ法を利用して定量できることである。

酢酸ビニルエマルジョン樹脂系接着剤(PVAc)は非ホルムアルデヒド系の汎用接着剤であるが、原料に酢酸ビニルモノマーを使用しているため、未反応の酢酸ビニルの分解によってアセトアルデヒドが生成する可能性がある。試みにラワン単板を使って単板のみの試料とPVAcで接着した合板の試料をそれぞれデシケータ法で測定し、ホルムアルデ

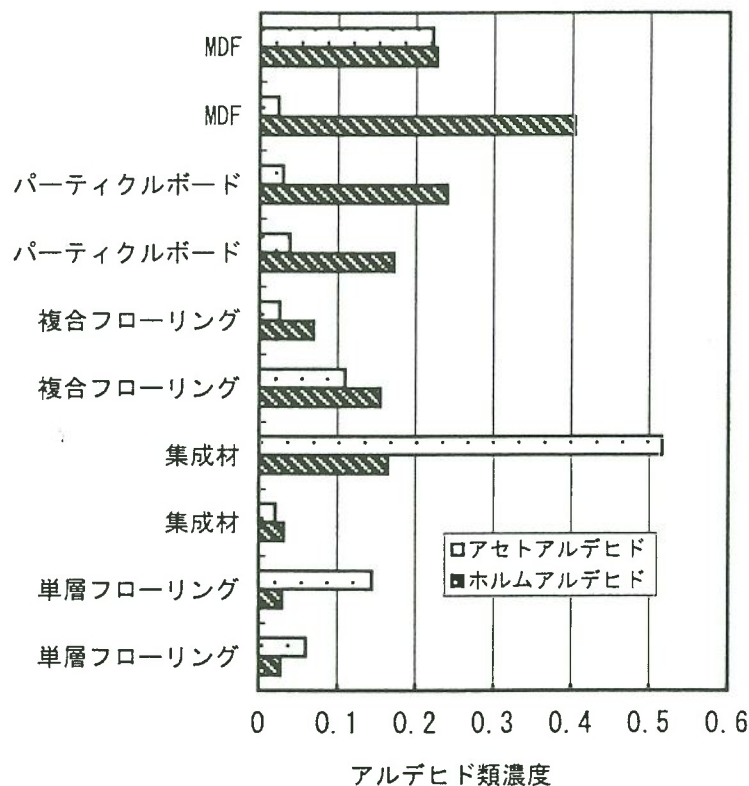


図2 様々な木質建材に対するDNPH-HPLC法の適用例

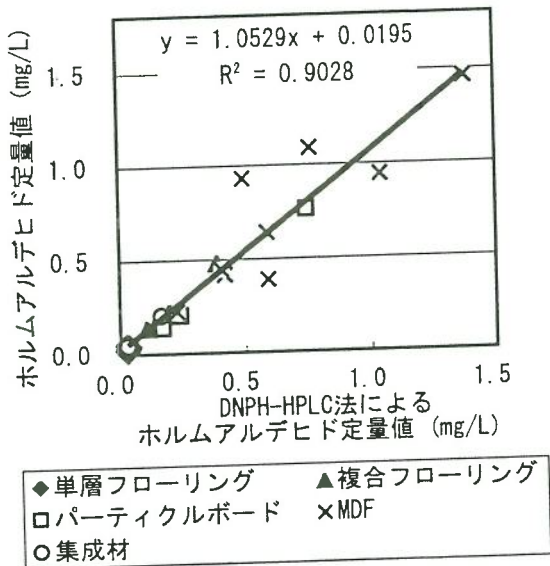


図3 ホルムアルデヒド定量値におけるアセチルアセトン法とDNP-HPLC法との相関

6. おわりに

シックハウス問題解決に向けて行政が動き出した今、木質接着製品の安全性の確保は、木材利用における最優先の課題である。しかしながら、トルエンなどの有害VOCと木材自身が発散するα-ピネンなどの“天然”VOCを同系列扱いして、TVOC（トータルVOC）として規制され、木材が使えなくなるような事態（コンクリートやステンレスだらけの家！）になってしまえば、別の問題が起こりはしないだろうか。今後は木材から発散される様々なVOCの健康に対するプラスの効果も併せて議論していくことが望まれる。

なお本研究は森林総合研究所運営交付金プロジェクト（平成14年度）の研究補助により行われた。

表1 非ホルムアルデヒド系接着剤への適用例

	デシケータ法(水中濃度)		小形チャンバー法(気中濃度)	
	ホルムアルデヒド (mg/l)	アセトアルデヒド (mg/l)	ホルムアルデヒド (μg/m ³)	アセトアルデヒド (μg/m ³)
ラワン単板	0.000	0.003	0.000	3.470
ラワン合板 (PVAc接着剤*使用)	0.001	0.043	0.000	42.460

* PVAc接着剤：酢酸ビニル樹脂系エマルジョン接着剤

ヒドとアセトアルデヒドをDNP-HPLC法により定量した。その結果、表1のようにホルムアルデヒドはどちらもほとんど検出されなかったが、アセトアルデヒドは合板の方からのみ検出され、PVAc接着剤から放散している可能性が高いことがわかった。つまり、本定量法を用いることで、非ホルムアルデヒド系接着剤を含めたデシケータ法の適用範囲を拡大することができる。また、デシケータ法による本試験結果は、同じ試料を小形チャンバー法で試験した結果とも良く傾向が一致した。今後データを増やすことでデシケータ法による水中濃度と小形チャンバー法による気中濃度との関連性を検討することも期待できる。

文献

- 1) 井上明生 (2002), 日本接着学会誌, 38 (6), 201-206
- 2) 厚生労働省 (2002), 分煙効果判定基準策定検討会報告書
- 3) 岸本定吉ら (1970), 木材学会誌, 16 (8), 382-387
- 4) 環境省 (2002), 平成13年度地方公共団体等における有害大気汚染モニタリング調査結果
- 5) 塔村真一郎ら (2003), 日本接着学会誌, 39 (5), 190-193
- 6) Tohmura, S. et al. (1994), Mokuzai Gakkaishi, 40 (4), 390-398

◀国内情報▶

マダイ養殖漁場における海水中の細菌群集の 有機物分解活性と群集組成の変動

独立行政法人 水産総合研究センター 養殖研究所

坂 見 知 子

魚類養殖漁場は給餌による有機物負荷が非常に大きく、海水中の細菌群集は高い活性を持っている。そこで細菌群集を浮遊細菌と付着細菌に分けて有機物分解活性と細菌群集構造を調べた。その結果、付着細菌群集は海水中のタンパク質分解活性の約6割を担っており、夏季にその寄与率が高くなる傾向が見られた。細菌群集組成も夏季には変化しており、海水中の細菌活性の変化に群集組成が関係している可能性が示唆された。

1. はじめに

日本の水産業において、海面養殖業は総生産額の28%を占め、その比率は年々増加している。このうち、ギンザケやブリ等の魚類養殖が生産額のほぼ半分を占める。これらの魚類養殖は通常波の穏やかな内湾に筏を設置して稚魚を収容し、餌を与えて大きく育てて出荷する。しかし与えた飼料のうち魚体として収穫されるのは10~20%程度であり、残りの80~90%は漁場への有機物負荷となる。そのため漁場の有機物汚染が進み赤潮や貧酸素水による漁業被害が問題となっている。

海水中での有機物の分解は、主に細菌類が担っており（菌類は海水中にほとんどいない）、海水中の細菌群集は、給餌養殖による漁場の有機物汚染の影響を最も直接的に受ける生物群集であると考えられる。我々が調査を行っている三重県五ヶ所湾のマダイ養殖漁場では、海水中の細菌群集の活性が隣接する養殖を行っていない水域に比べて顕著に亢進しており、細菌の二次生産量は養殖によって海水中に負荷される有機物量に匹敵すると見積もられた。このような量的な変化をもたらす要因として、細菌群集の質的な変化、即ち群集組成が養殖漁場では変化していることが考えられる。

海水中には約 10^6 cells/Lの密度で細菌が存

SAKAMI Tomoko

〒516-0193 三重県度会郡南勢町中津浜浦422-1

在している。しかしながら、このうち培養が可能なのは通常1%以下であり、実際の海水中で優占している細菌の種類や性質については、ほとんど不明であった。この10年ほどの間に遺伝子工学的な手法を用いた細菌の検出・分類の技術が進歩したことにより、培養に頼ることなく細菌群集の組成を明らかにすることができるようになった。現在、様々な自然環境中で細菌群集の組成が明らかにされつつある。そこで今回は、マダイ養殖漁場の海水中の細菌群集について、有機物の分解活性と群集組成の解析を試みた結果を紹介する。

2. 付着細菌群集が水中の有機物分解に果たす役割

一般に水中の懸濁粒子に付着している細菌は単独で浮遊しているものよりも高い活性を持っていることが知られている。我々が調査を行っているマダイ養殖漁場でも、細菌群集の有機物分解活性と海水中の粒子状有機物濃度との間に高い相関がみられ、付着細菌群集が水中の有機物分解に強く関わっていることが予想された。そこで今回実験を行うに当たって、海水中の細菌群集を孔径1 μ mのフィルターで濾別して、付着細菌群集 (> 1 μ m) と浮遊細菌群集 (< 1 μ m) の2つの群に分け、それぞれの細菌群集について、タンパク質分解の指標としてロイシニアミノペプチダ

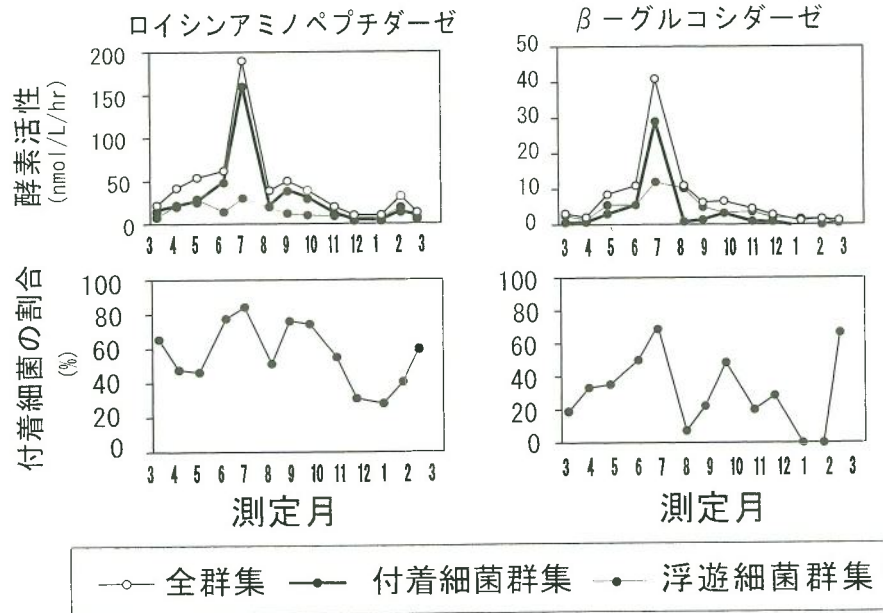


図1 マダイ養殖漁場表層海中における付着及び浮遊細菌群集の菌体外加水分解酵素活性

表1 細菌1細胞あたりの菌体外酵素活性

APA/cell			βGLC/cell		
amol/cell/hr			amol/cell/hr		
付着細菌	浮遊細菌	浮遊/付着	付着細菌	浮遊細菌	浮遊/付着
231	17	13	7.0	2.1	3.2
(31-1090)	(7.5-37)	(2.7-35)	(0-49)	(0.35-3.7)	(0-13)
平均 (値範囲)					

ーゼ (LAP), 糖質分解の指標としてβ-グルコシダーゼ (βGlc) の両菌体外加水分解酵素活性を周年測定した。なお, 菌体外酵素 (Extracellular Enzyme) とは, 細菌が高分子の有機物を利用する際に細胞膜の外 (菌体外) で低分子化するための酵素のことで, 菌体破砕などの処理をしない生の海水中で検出される酵素活性をさす。水圏環境では一般に細菌がそのまま利用できる低分子有機物は枯渇しており, この菌体外酵素による分解過程が水中での細菌群集による有機物分解速度を律していると考えられている¹⁾。

マダイ養殖漁場海水中におけるこれらの菌体外酵素活性は夏季に高く冬季に低い季節変

動を示し, 特に7月には顕著に高い活性を示した (図1)。付着細菌の活性が全活性に占める割合をみると, LAPでは28~84% (平均57%) で, 夏季に高く冬季に低い傾向が見られた。一方βGlcでは0~67% (平均31%) とLAPに比べて全体に低くなっているが, その変動幅は大きく季節的な傾向は見られなかった。これらの活性を細菌1細胞あたりで付着細菌と浮遊細菌と比較すると, LAPでは付着細菌が浮遊細菌の約13倍となる (表1)。一方βGlcでは, その比は3.2倍と小さく付着細菌と浮遊細菌の差は有意ではなかった。

これより付着細菌群集は高いタンパク質分解能力を持ち, 夏季にその活動が顕著になる

ことが示された。夏季には養殖の給餌量も多く、漁場に負荷された有機物の分解に付着細菌群集が果たす役割は重要であることが推察される。

3. 海水中の細菌群集組成の変化

今回細菌群集組成の解析に用いた方法は、16S-rRNA遺伝子を標的としたPCR-DGGE (Denaturant Gradient Gel Electrophoresis) 法である。これは、海水から細菌サイズの粒子を捕集してDNAを抽出し、細菌の分類指標として用いられる16S-rRNA遺伝子の一部をPCRで増幅して、その産物(様々な細菌の遺伝子が混じりあって増幅されている)を、DNA変性剤の濃度勾配をつけたゲルを用いて電気泳動し、配列(Tm値)の違いによって分離する方法である²⁾。ある細菌群集の組成を電気泳動のパターンとして表すことができ、さらに各バンド(細菌の種類に相当する)を切り出して再増幅させて塩基配列の解析を行うことで細菌種の特定制もできる。PCR増幅時の偏りが避けられないため定性的な解析で

はあるが、複数の試料について細菌群集組成の違いをみるのに適しており、天然環境中やコンポストのような処理実験系等で細菌群集組成の変動を解析するのにしばしば用いられる。

マダイ養殖漁場の表層海水中における付着細菌と浮遊細菌の群集組成の周年変化を図2に示す。まず量的に多数を占める浮遊細菌群集についてみると、全体に付着細菌よりも多い2~11本程度のバンドが検出された。多くのバンドは数カ月間連続して観察されたことから、海水中の細菌群集組成はかなり安定しており、季節毎に変動することが明らかになった。主要なバンドを切り出して塩基配列を調べ、既存のデータベースで検索した結果、今回調べた15本のバンド全ては、海洋から直接採取した(細菌を培養していない)細菌遺伝子と最も配列が近かった。これより今回調査を行った養殖漁場でも、おそらく通常の方法では培養できない海洋性の細菌が優占していることが明らかとなった。

付着細菌の群集組成についてみると、らん藻類(図中矢印)が強く検出され、その他に

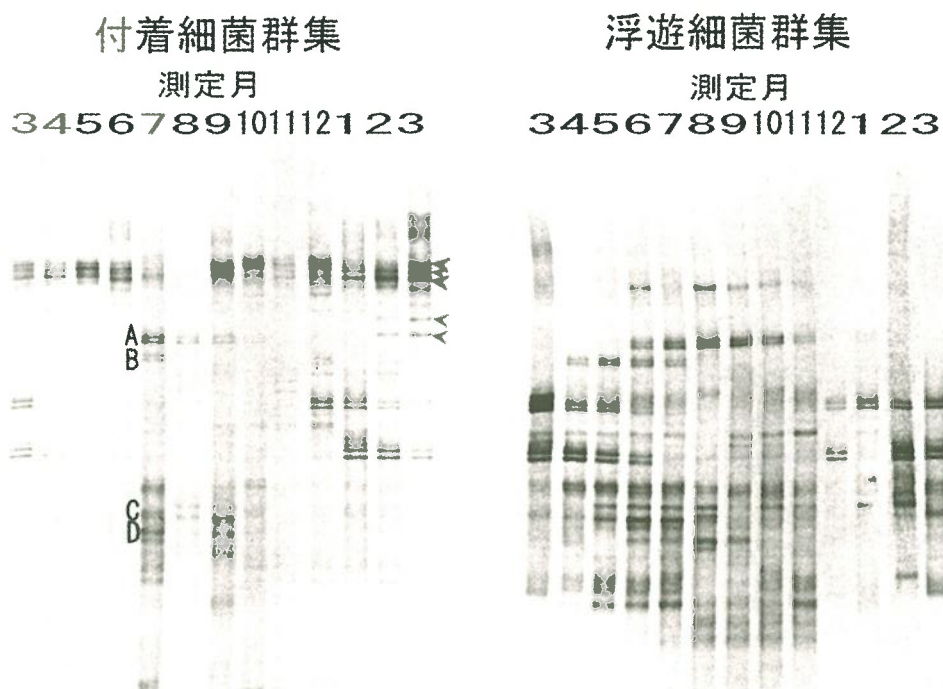


図2 マダイ養殖漁場表層海水中における付着及び浮遊細菌群集組成(DGGE像)。矢印はらん藻のバンドを示す

検出されたバンドの多くは浮遊細菌と共通のものであった。また、付着細菌群集の有機物加水分解酵素活性が極端に高くなっていた7月の細菌群集組成を見ると、らん藻のバンドが薄くなり浮遊細菌と共通の α プロテオバクテリアに属するバンド(図中A, B)や、一般に高分子有機物の分解活性が高いサイトファーガに属するバンド(図中C, D)等が見られた。

これらの種類の細菌が、海水中で測定された高い加水分解酵素活性の原因であるかについては、今回の結果から直接断じることにはできない。量的に少なくバンドとして検出できなかった別の種類の細菌が非常に高い活性を持っていた可能性も残されている。しかしながら、有機物分解活性の高い夏季には、細菌相、特に付着細菌相が変化していたことは明らかであり、海水中の細菌活性の変化に群集組成が関係していることが推察される。

4. おわりに

微生物の生態学は、環境中の遺伝子を解析する技術が開発されるまで「種」を扱うことができなかった。そのため、ある環境中に「どんな種類のものが、どれくらい存在しているのか?」という最も基本的なことがまだ明らかになっていない場合が多い。今回示し

たデータも、マダイ養殖漁場での細菌群集組成の定性的な記述にとどまり、個々の細菌種が持つ生態的な役割を解明するための端緒を得たにすぎない。今後はDGGEによって特徴が見られた細菌種に標的を絞ったより定量的な解析や、養殖を行っていない水域との群集組成の比較、RT-PCR法による活性を持った細菌群の検出などを行い、養殖漁場の高い細菌活性がどのような細菌(群集)によるものであるのかを解明していく必要がある。初めに述べたように、海水中の細菌群集は水域に負荷される有機物に最も直に作用する生物群である。その活性や組成の変化は、給餌養殖が海水中の有機物循環機構に与える攪乱の程度を推定する上で重要な指標となりうるだろう。

文 献

- 1) Chrost R.J. (1991), Microbial enzymes in aquatic environments (Chrost R.J., Ed), Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes. 29-59, Springer Verlag, New York.
- 2) Muyzer, G. et al (1993), Appl. Environ. Microbiol., 59, 695-700

◀国内情報▶

畜舎排水浄化処理装置の開発と実用化

生物系特定産業技術研究推進機構 畜産工学研究部

道 宗 直 昭

畜舎から排出される家畜尿汚水を浄化処理するために、珪がらを濾材とした濾過装置、間欠曝気槽、沈殿槽、機能膜処理装置等で構成されるコンパクトな畜舎排水浄化処理装置を開発した。さらに浄化処理水を脱色し、処理水中のリンを除去・回収できる畜舎排水脱色リン除去装置を開発した。本装置では、BOD、SS、窒素、リンを水質汚濁防止法の排水基準以下に浄化処理でき、リンはリン酸塩の結晶として回収できた。

1. はじめに

畜産経営に起因する苦情発生件数は、悪臭関連が63.2%、水質関連が39.6%、害虫発生6.8%、その他6.1%（平成13年）となっており、畜産経営にとって水質汚濁の問題についても依然として大きな課題となっている。平成11年に新農業基本法を受けて「家畜排泄物の管理の適正化及び利用促進に関する法律」などいわゆる環境3法が成立し、家畜ふん尿の野積み、素堀りの解消を5年後（平成16年）を目途に求めており、そのために家畜ふんは、堆肥化し取扱性の向上を図るとともに品質の安定した堆肥とし、尿汚水は浄化処理、液肥化処理等適正な処理を行うことが求められている。さらに、平成13年7月には水質汚濁防止法の一部改正が行われ、一般排水基準に有害物質の追加項目として、アンモニアや窒素化合物が加わり（3年間の暫定排水基準が設定）、1日当たりの平均排水量50m³以上や特定水域への排出に適用という限定枠に係わらず規制されるようになった。

このように畜産を取り巻く環境はますます厳しい状況になってきている。生研機構では農業機械等緊急開発事業において、畜舎排水処理の課題として、畜舎排水浄化処理装置の開発を行い、BOD、SS、窒素を水質汚濁防止法の排水基準まで浄化できる装置を開発し、

DOSHU Naoaki

〒331-8537 さいたま市北区日進町1-40-2

さらに浄化処理水の脱色、リンを除去することができ畜舎排水脱色・リン除去装置の開発を行ったのでその概要を報告する。なお、本装置の開発は共和化工(株)との共同研究として行った。

2. 畜舎排水浄化処理装置の概要

活性汚泥法は下水処理をはじめ工場排水、畜舎排水などを浄化処理する方法として広く利用されている。活性汚泥法は、活性汚泥という微生物のかたまりを汚水中に浮遊させ、空気（酸素）を供給して好氣的条件下で汚濁物質（有機物）を分解（浄化）する方法である。畜舎から排出される家畜尿汚水は、汚濁濃度が高く、濃度変動も大きいため、標準活性汚泥処理装置等で浄化処理するには希釈水を用いて濃度調整を行う必要があり装置面積が大きくなっている。また、BOD、SS、窒素などを水質汚濁防止法の排水基準以下にするには相応の管理技術が必要となる。そこで、前処理でBOD、SSを3割程度除去して曝気槽の負荷を軽減し、無希釈で浄化処理することによって曝気槽を小さくするなど装置のコンパクト化を図り、さらに曝気槽では間欠曝気を行うことにより窒素も低減できる畜舎排水浄化処理装置の開発を行った（図1）。

本装置は、濾過装置、間欠曝気槽、沈殿槽、機能膜処理装置（高次処理）等で構成されている。前処理の濾過装置は、珪がらを濾材と

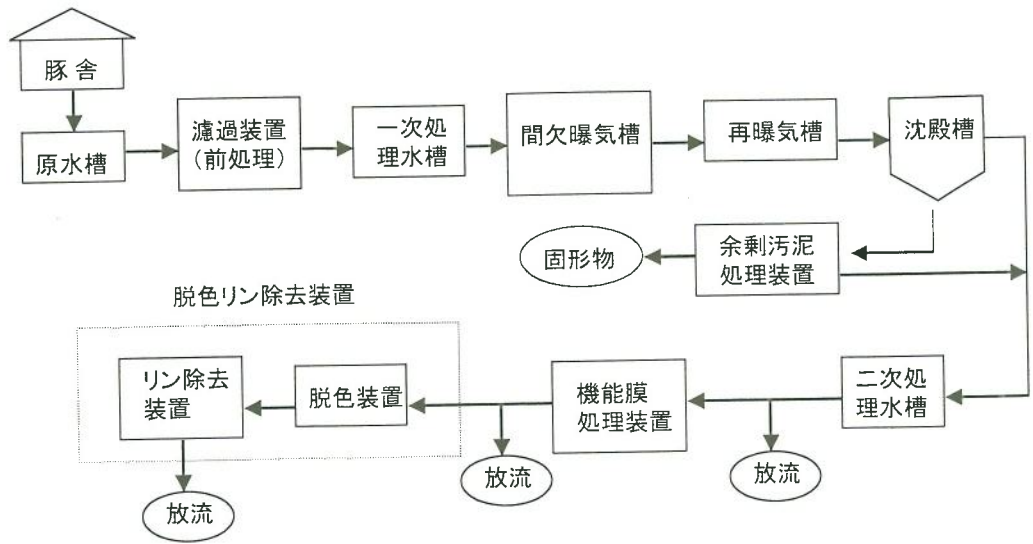


図1 畜舎排水浄化処理装置のフロー

して高さ1mに堆積し、濾床上部に前後左右上下に移動可能なスクリー式攪拌機を設置している(図2)。尿汚水を濾床上部から1日に濾床面積1m²当たり約600L散布・濾過したあと、攪拌機で濾材を攪拌し、濾床下部から通気を行って濾材内に捕捉された有機物を分解して濾材の目詰まりを防止する。濾液は一次処理槽に貯留され、適宜、間欠曝気槽へ送られる。

間欠曝気槽では、曝気と停止を1時間毎に交互に繰り返す1サイクル2時間の間欠運転を行い、曝気時に好気性微生物により有機物の分解(BODの減少)とアンモニア性窒素の酸化を促進させ、停止時に嫌気性菌によって脱窒を図り窒素の低減を行う。間欠曝気槽にpH、ORP、MLSS、DOセンサーが設置され、槽内の液の管理と装置の自動化を図っている。

再曝気槽は、間欠曝気槽で処理された処理水の残存有機物の除去と汚泥混液中に内包された気泡の脱気を行う。沈殿槽は活性汚泥と処理水(上澄液)とを分離する槽である。活性汚泥の一部は種汚泥として間欠曝気槽へ返送され、残りは余剰汚泥として脱水し、固形分は堆肥化され、液分は処理水として排水される。

沈殿槽で得られた二次処理水は、水質汚濁

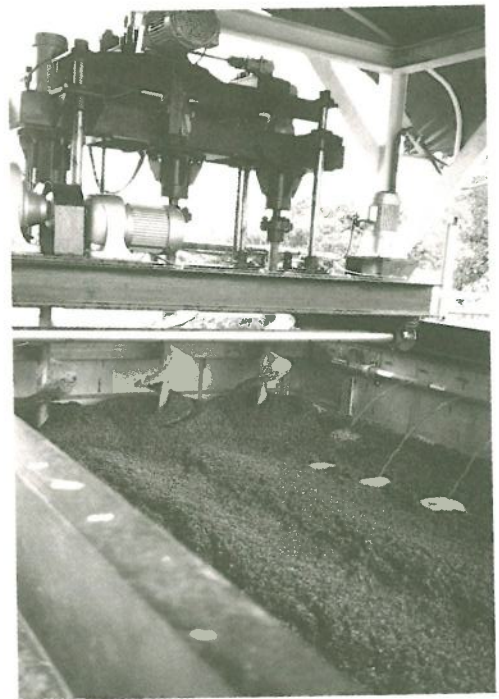


図2 もみ殻を利用した濾過装置

防止法の排水基準以下であるが、指定湖沼など地域によってその排水基準を下回る上乗せ基準を採用しているところもある。そのようなところではさらに機能膜(UMF:超精密濾過膜)を使い高次処理を行う。

本装置の性能は、濾過装置ではBOD、SSが30%程度、窒素、リンは20%程度除去される。珪がらの交換時期は尿汚水の濃度による

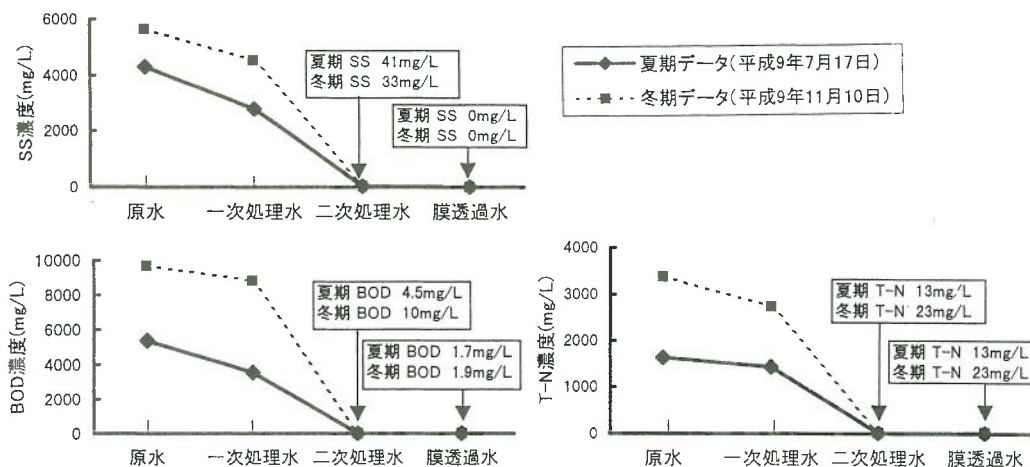


図3 夏期および冬期における各行程の処理性能

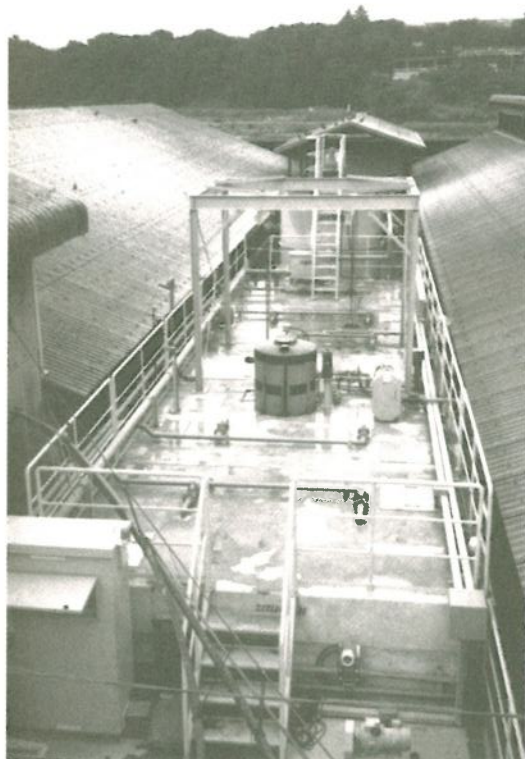


図4 豚舎の間に設置した畜舎排水浄化処理装置（実証機）

が約4カ月で、使用済み糞がらはふんと混合して堆肥化される。間欠曝気槽では、BOD負荷は $0.17\sim 1.5\text{kg}/\text{m}^3\cdot\text{日}$ 、T-N負荷は、 $0.05\sim 0.43\text{kg}/\text{m}^3\cdot\text{日}$ 程度であり、浄化性能はBOD、SS、窒素については夏期に比べ冬期がやや低下するものの、水質汚濁防止法の排水基準（BOD： $120\text{mg}/\text{L}$ 、SS： $150\text{mg}/\text{L}$ 、窒

素： $60\text{mg}/\text{L}$ ）を十分クリアしている（図3）。機能膜処理装置では、二次処理水を膜処理しBOD、SSはほとんど除去することはできるが、イオン化した窒素、リン等の除去はできなかった。色度についても2割程度の脱色に留まり、色度200程度程度の茶褐色をした処理水となった。後述の脱色、リン除去装置にはこの機能膜を通した処理水を用いた。

本装置の実証機（肥育豚換算で800頭規模）を神奈川県厚木市のA養豚センターに設置し実証試験を行っている（図4）。

3. 畜舎排水脱色・リン除去装置

畜舎排水浄化処理装置では、BOD、SS、窒素を確実に浄化することができたが、機能膜処理装置で濾過された浄化処理水は茶褐色に呈色し、リンも残存していることから、その処理水の脱色とリン除去が求められていた。

1) 畜舎排水脱色装置

脱色装置は、飽和塩水タンク、電解水生成装置（無隔膜法）、電解水タンク、反応槽、吸光光度計で構成されている。飽和塩水を電気分解して得られた塩素類を含む電解水を茶褐色に呈した浄化処理水に添加し、浄化処理水中の色成分である有機物を塩素類の酸化力で分解し脱色する。排水の色度を吸光光度計で測定し、色度が100度以上にならないよう

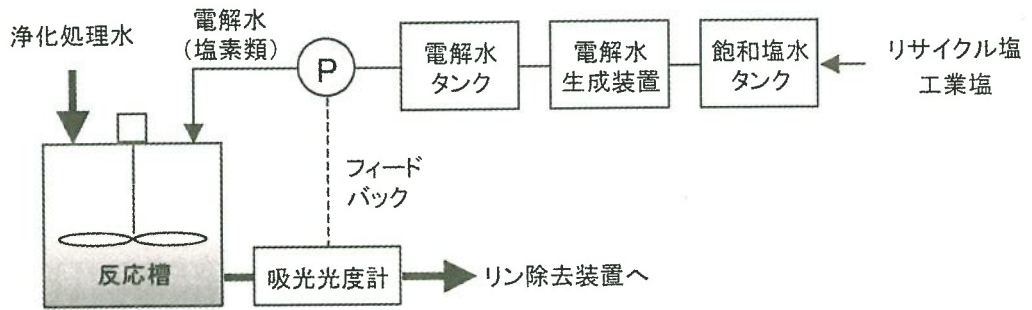


図5 脱色装置のフロー

電解水の添加量を自動制御し、過剰な電解水が排水に流れないように制御できる(図5, 6, 表1)。脱色性能は、色度200程度程度の茶褐色を呈した浄化処理水を色度100度以下に脱色でき、その処理能力は10m³/日(肥育豚で約1,000頭規模に相当)である。飽和塩水の原料として安価なりサイクル塩(約5円/kg)が使用できる。

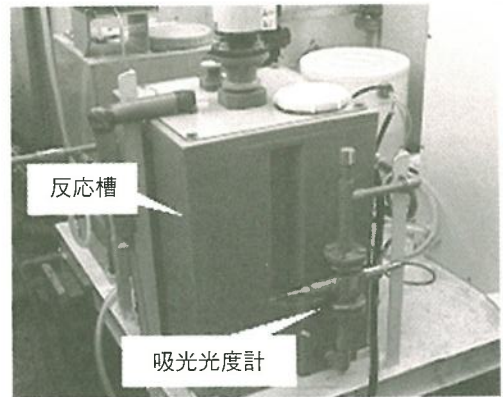


図6 脱色装置の外観

2) 畜舎排水リン除去装置

リン除去装置は、2基のリン吸着塔と回収装置等で構成される。吸着塔にはリン酸イオンを優先的に吸着できる吸着剤(ジルコニウムフェライト樹脂)が充填されている。リン除去方法は、浄化処理水を吸着塔の吸着剤に通してリンを吸着・除去し、一定期間内に吸着したリンを水酸化ナト

リウム溶液でリン酸塩溶液として離脱・回収する。リンが離脱した吸着剤は再生利用ができるため、吸着剤の交換の必要はなく長期間使用できる。2基のリン吸着塔では、1基が吸着工程にあるとき別の1基は離脱・回収工程にあって、2基を交互に使うことで連続通水運転ができる(図7, 8,)。

リン除去装置は、排水中のリンを水質汚濁防止法の排水基準(T-P: 8mg/L)以下とすることができる(表2)。回収したリン酸塩

表1 脱色装置の性能(測定例)

種別	pH	色度(度)	COD(mg/L)	残留塩素(mg/L)
浄化処理水	— (7.32~7.71)	167 (145~194)	54.6 (46.8~70.2)	—
脱色処理水	— (7.01~7.87)	71 (47~93)	41.2 (33.1~45.6)	0.16 (0.05未満~1.2)

注) 上段は平均値, ()内は測定値の範囲。

溶液を冷却濃縮することによって、高品質のリン酸塩結晶(Na₃PO₄・12H₂O)として回収でき、リン酸塩結晶は金属表面処理剤として利用できる。処理能力は10m³/日で、運転費は処理水のリン酸イオン濃度が100mg/Lのとき、処理水1m³当たり約45円、リン酸塩結晶1kgの生産費は約130円である。

脱色・リン除去装置は、畜舎排水浄化処理装置などの浄化処理装置(機能膜処理装置付き)の処理水を対象とし、脱色が求められる

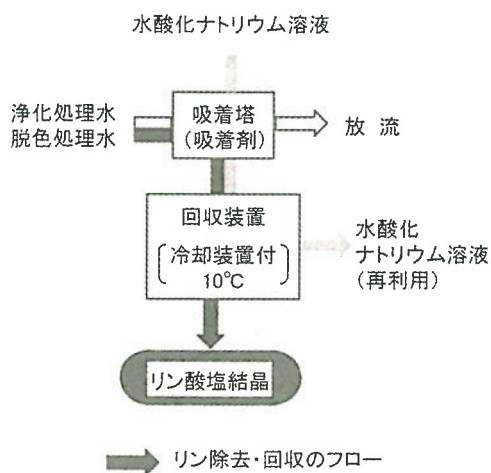


図7 リン除去装置のフロー



図8 リン除去装置の外観

地域やリンの排水基準が求められる環境規制の厳しい地域に適用できる。

4. おわりに

畜産を取り巻く厳しい環境規制の中で、規制に確実に対応できる装置を開発することができた。しかし、畜産のふん尿処理施設の多くは、畜種、経営規模、飼養管理方法、地域の自然条件などによってオーダーメイドで設計、製作しなければならず、低コストに繋がりにくい面がある。紹介したそれぞれの装置は単独でも利用可能であり、状況に応じた利用法の検討と、いろいろな角度から開発した技術を活用して低コスト化に向けたさらなる取り組みが必要である。また、リン除去装置については、廃棄物から高濃度のリン酸塩結晶を回収し工業面で利用できる

表2 リン除去装置の性能 (測定例)

	浄化処理水(原水)	装置通過後水
pH	7.2~8.6	7.2~8.5
PO ₄ ³⁻ 濃度 (mg/L)	26~109	0~20.8
T-P 濃度 (mg/L)	8.5~35.6	0~6.8

新しい技術を開発した。今後は農業のなかで活用できる資源循環技術の開発に取り組む予定である。

引用・参考文献

- 1) 生研機構 (1998) : 平成9年度研究報告会資料
- 2) 生研機構 (2003) : 平成14年度研究報告会資料

◀地域の先端研究▶

新規酵母を用いた 低アルコール濃度清酒の開発

¹宮城県産業技術総合センター ²宮城県酒造協同組合

橋本建哉¹・伊藤謙治²

発酵停止型（もろみを通常のアルコール発酵終点より早い段階で発酵停止させる）の低アルコール濃度清酒は、割水希釈型（通常の清酒あるいはそれに近いアルコール濃度まで発酵させた清酒に加水してアルコール濃度を下げる）のそれに比べて、もろみの発酵管理は困難であるが、品質は多様なものとなる傾向が見られる。高度な管理技術や特殊な設備を保有しない小規模の製造場においても、発酵停止型の低アルコール濃度清酒の開発が促進されるように清酒のオフフレーバーであるダイアセチル臭の発生を抑制する酵母の開発を行った。

1. はじめに

清酒の消費は、昭和48年の165万ℓをピークに、平成13年には94万ℓまで減少している。これは、社会・経済情勢や食生活の変化に依るところが大きいと思われるが、世界的なハードリカー離れおよびソフトリカーの消費拡大といった潮流も無視できるものではないと思われる。そうしたなか清酒においては、発泡性のものや清酒をベースにしたリキュールなどこれまでの清酒のテイストとは違った、より多様な商品開発が徐々にではあるが活発化しつつあるのが現状である。そうしたものの一つに低アルコール濃度清酒があり、「清酒らしさ」の要素である「酔いやすさ」に対する多様化の流れの中で、次々と商品化されている。

低アルコール濃度清酒製造には、もろみの途中で上槽し、発酵を停止する方法や原酒に加水して清酒のアルコール濃度を下げる方法があるが、清酒と異なるテイストを求めるには発酵停止型の製法が向いており、実際数多くの商品が市場に出回っている。この場合、ダイアセチル臭などのオフフレーバー発生の危険が伴うことにより、製造には高度なもろみ管理の技術・設備を必要とするため、本県

HASHIMOTO Ken-ya¹, ITOH Kenji²

¹〒981-3206 仙台市泉区明通2-2

²〒981-0011 仙台市青葉区上杉2-3-1

の大部分を占める小規模メーカーにとって発酵停止型の低アルコール濃度清酒開発は困難なものであった。ダイアセチル臭は、ダイアセチルを主体としたピシナルジケトン類が清酒中に閾値以上存在することにより感知され、その閾値は1 ppm以下¹⁾といわれている。清酒中のピシナルジケトン類はダイアセチルと2,3-ペンタジオンに大別され、それぞれ酵母の分岐鎖アミノ酸生合成中間産物 α -アセトヒドロキシ酸である α -アセト乳酸及び α -アセトヒドロキシ酪酸を前駆体として、酵母の関与しない自動酸化によって生成する。従って、ピシナルジケトン類及びその前駆体である α -アセトヒドロキシ酸類全体（トータルダイアセチル）を安定的に低減する酵母を育種すれば、特殊な技術・設備を保有しなくとも低アルコール濃度清酒の新商品開発が容易になる。これまでビール製造用酵母においては、ダイアセチル臭発生を抑制する試みが数例報告されている²⁻⁵⁾が少なくとも国内においては、実用例は見られない。そこで、低アルコール濃度清酒製造用にトータルダイアセチル低蓄積性酵母の開発を行った。

2. 市販低アルコール濃度清酒調査による開発目標の設定

平成8年に宮城県酒造共同組合と宮城県は共同で、当時全国で市販されていた低アルコ

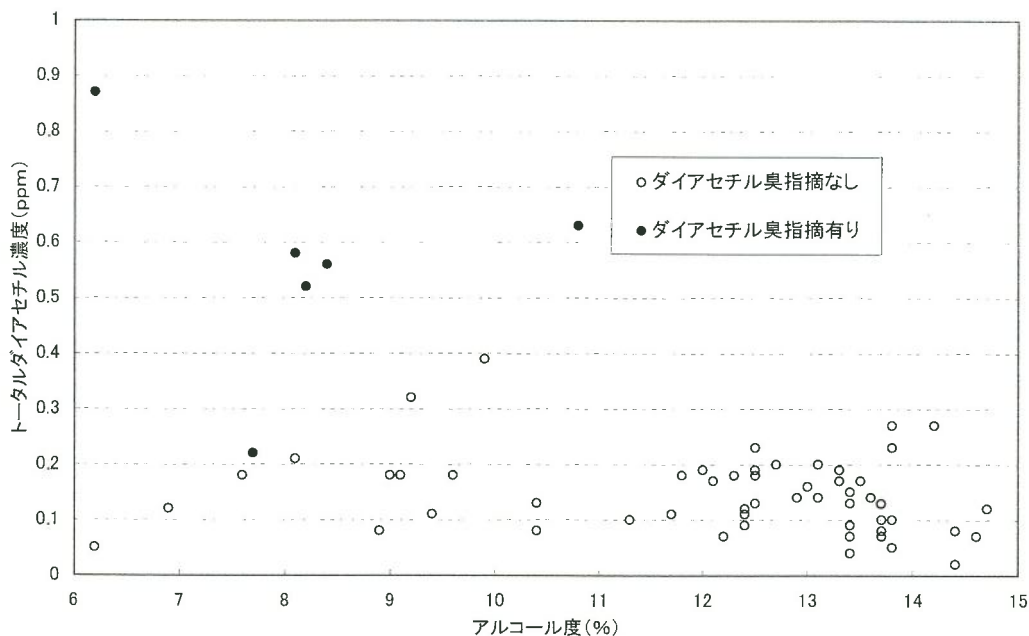


図1 低アルコール清酒のトータルダイアセチル濃度

ール濃度清酒など71銘柄について買い上げ調査を実施した⁶⁾。専門家パネル11名による利き酒の結果によれば、トータルダイアセチル濃度(井上らの方法⁷⁾による)0.5ppm以上の試料すべてにおいて、ダイアセチル臭の指摘が認められ、また敏感なパネルにあっては0.2ppmを上回る試料の一部についてもダイアセチル臭の指摘が見られた(図1)。これらの結果を踏まえ、低アルコール濃度清酒におけるトータルダイアセチル濃度の認知閾値を0.5ppm、ダイアセチル臭の発生を予防する管理目標値を0.2ppm以下と設定した。

異株より、新たに開発した方法(特開2001-291465)で、トータルダイアセチル低蓄積性変異株MY-2142株を取得した。MY-2142株及びその親株を用いて表1に示す仕込み配合で清酒を製造した。高温糖化酒母を製造し、もろみの仕込温度を初添12℃、仲添8℃、留添6℃とし、最高品温を13℃として発酵させた。このもろみにおける各アルコール度数帯における成分を表2に示すが、MY-2142株は発酵期間を通してトータルダイアセチルが0.2ppmを下回り、安定したトータルダイアセチル低蓄積性が認められた。また、同じ仕込配合でもろみの仕込温度を初添14℃、仲添

3. トータルダイアセチル低蓄積性酵母の開発

表1 清酒の仕込配合

日本醸造協会清酒用7号酵母を親株に突然変異処理により得た変

	酒母	初添	仲添	留添	合計
総米(kg)	6	16.5	29.5	48	100
麴米(kg)	2	4.5	6.5	8	21
掛米(kg)	4	12	23	40	79
汲水(ℓ)	10.8	16	35	78.2	140

表2 清酒成分の比較

親株			MY-2142株		
アルコール度(%)	トータルダイアセチル濃度(ppm)	日本酒度	アルコール度(%)	トータルダイアセチル濃度(ppm)	日本酒度
4.9	0.19	-66	4.9	0.13	-66
6.7	0.22	-60	6.4	0.09	-58
8.6	0.25	-50	8.8	0.09	-50
11.0	0.48	-42	10.8	0.17	-40
13.9	0.61	-22	13.5	0.19	-26
15.7	0.55	-9	15.9	0.07	-14

10℃、留添8℃とし、最高品温を14℃として発酵させた場合においても、MY-2142株は同様の安定したトータルダイアセチル低蓄積性を示した。このことから、従来は困難であった発酵中のもろみを任意の時期に上槽することが可能になり、多様な品質の低アルコール濃度清酒を従来の一般的な製造方法からも得られるようになった。

4. 消費者パネルによる嗜好調査

このトータルダイアセチル低蓄積性変異株MY-2142株を利用した低アルコール濃度清酒開発に先立ち、消費者の嗜好調査を実施した。表3に示す成分の異なる5種類の低アルコー

表3 嗜好調査に供した清酒の成分

試料番号	アルコール度 (%)	日本酒度	総酸度
1	12.4	-28.5	2.9
2	10.5	-35	2.5
3	8.7	-43	2.2
4	6.1	-52	1.7
5	5.5	-54	1.5

ル濃度清酒を用いて消費者の味の嗜好を「とても好き」から「嫌い」までの4段階で評価してもらった。パネラー総数は321名（うち有効回答数309名）で女性44%、男性56%、居住地はほとんど仙台市とその近郊であった。嗜好の特徴を世代別にみると、20～30歳代では試料4、5に高い支持が集まった。特に20歳代女性でその傾向が顕著であり、「清酒的でないから好ましい」とのコメントが多く寄せられた。それに対し、中高年の男性（特に40歳代男性）では、味、成分的に従来の清酒に近い試料2が好まれていた。日本酒に対する嗜好別に見ると、日本酒が「好きでない」「嫌い」と回答したパネラーには「清酒的でない」「やわらか」「甘い」などの評価で試料4、5が人気であった。一方、日本酒が「とても好き」と回答したパネラーでは、従来の清酒に近い試料2の評価が高かった。「ほどほど好き」と回答したパネラーでは、前2者の中間に位置する試料3の評価が高

く、コメントは「バランスがよい」「軽い」などであった。

5. 商品化を前提とした実地試験醸造

平成12酒造年度にトータルダイアセチル低蓄積性変異株MY-2142株を用いた、商品化を前提とした実地醸造試験を行った。前項の消費者パネル嗜好調査結果を基に各社の要望に沿った目標酒質設計、仕込計画を策定し、それぞれ実地醸造試験を行った。その結果、仕込配合や温度経過の異なる13点全ての試験醸造酒において、開発目標であったトータルダイアセチル濃度0.2ppm以下を実現し、実地醸造においてもMY-2142株によるダイアセチル臭抑制効果が立証された。また、各社の目標酒質設計も概ね満たすことが出来、より多様な商品開発が実現された。

6. おわりに

この開発は、当初より宮城県と宮城県酒造協同組合の共同で進められたものである。酵母開発には6年もの期間を費やしたが、その後速やかに商品化にこぎ着けた背景には、産官の相互補完型連携によるユーザーの声を反映できる開発体制が構築できたことが一要因であったものと考えている。現在、MY-2142株（一般から名称を募集し、「みやぎ酵母・愛実（まなみ）」と命名）を用いた低アルコール濃度清酒は県内11社において商品化されており、他3者において商品化が検討されている。表4に示したように、開発当初からの方針である、お客様に選ぶ楽しみを提供するとの考えから、あえて目標成分を同一のものとせずアルコール度は5%台～9%台、甘さを前面に出したのからすっきりとしたタイプまで各社の個性を出したものとなっており、まだ量的には微々たるものであるが、少しずつ製造量も伸びつつあるところである。この「みやぎ酵母・愛実（まなみ）」により従来の清酒とは違った様々な商品が生まれ、清酒を選ぶ楽しみを広げる一助となれば幸い

表4 みやぎ酵母・愛実使用清酒一覧

商品名	会社名	容量 (ml)	アルコール度 (%)	商品の特徴
はあとがきゅん	勝山企業(株)	300	8未満	甘くてほんのり微発泡の新感覚のお酒
胡弓	天賞酒造(株)	500	8~9	やわらかな酸味と甘味が調和
MORITAMI LIGHT	森民酒造本家	300	7~8	軽快ですっきりと甘い
浦霞 萩の白露	(株)佐浦	500	9~10	軽快でほんのりとした甘酸っぱい味わい
真鶴 まな姫	(株)田中酒造店	300	8.5	口当たり優しく甘くてフルーティー
愛(ラブ)メッセージ	(名)寒梅酒造	300	8.9	甘みと酸味が調和
あべりていふ 綿屋	金の井酒造(株)	500	8~9	あっさりした味わいでちょっとフルーティー
澤のささやき	石越醸造(株)	300	8.8	甘みと酸味が調和
金紋両国 ma·na·mi	(株)角星	200	9.5	甘みと酸味のバランスがとれてすっきり
リアスのしずく	(株)男山本店	720	9~10	軽快ですっきりした味わい

である。

本研究を進めるに当たり、共同研究員として(株)佐浦 菅澤聡氏、(株)田中酒造店 関東宣道氏に多大なるご尽力を頂きました。ご両名およびご両名をご派遣下さいました、(株)佐浦、(株)田中酒造店に深謝いたします。

文 献

1) 小武山温之ら (1962), 醸協, 57, 607

- 2) Cabane, B. et al (1973), *American society of brewing chemists, proceeding*, 94-99
- 3) 特許1900353号
- 4) 特許2132811号
- 5) 特許2091444号
- 6) 今野政憲ら(1997), 宮城県工業技術センター研究報告, 28, 74-77
- 7) Inoue, T. et al (1978), *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 36, 139



ブレイン テクノニュース
バックナンバーのご案内
第96号
2003年3月15日発行

総 説

作物のDNAマーカー育種の現状と展望井邊時雄

国内情報

- うどんの“こし(粘弾性)”とDNAマーカー
.....中村俊樹・齊藤美香・Patricia Vrinten・石川吾郎
- かんきつ類の合成周縁キメラ研究と新しいキメラ品種の開発
...脇塚 巧・菅原邦明・西山 聡・稲田絵理子・大和田 厚
- 異常プリオン蛋白質を分解する新規酵素について
.....三輪岳宏・村山裕一・吉岡 都・横山 隆
三浦克洋・黒川 知・西澤耕治
- 海藻クロメ由来フロロタンニンの殺菌作用

-長山公紀・岩村善利・中村 孝
- 穀物自動乾燥調製装置(グレインプロセッサ)の開発
.....久保田興太郎・日高靖之・市川友彦
- 地域先端研究**
羊毛防縮加工に有用な新規酵素を生産する微生物の探索
.....茶谷悦司・安田(吉野) 庄子・山本周治・北野道雄・北本則行

文献情報

- 長期間培養におけるウシA型精祖細胞の増殖と分化
.....(抄訳: 下司雅也)
- グルタチオンと初期対数増殖期を利用した酵母の簡便、迅速、高効率な形質転換法.....(抄訳: 家藤治幸)
- 植物MITEは薬培養で動き出す.....(抄訳: 岩井純夫)
- 主要な交差反応性魚アレルギーである組換えコイバルブアルブミン: 魚アレルギーの診断.....(抄訳: 沖田裕司)
- 海外便り
家畜の遺伝子探索と家族の生活—ロスリン研究所での1年半—
.....長嶺慶隆

◀地域の先端研究▶

小麦タンパク質「グリアジン画分」による
国産小麦粉を用いたパンの大量生産技術の開発

¹アサマ化成株式会社 ²東京都立食品技術センター

新井千秋¹・廣瀬理恵子²・柴田朋子¹・丹下幹子¹

国産小麦粉を用いて、食パンの大量生産技術を開発する目的で、日本麵用粉である「ホクシン」に小麦タンパク質「グリアジン画分」を添加し、中種法に改良を加えた結果、外国産小麦粉を使用した従来技術の食パンと同等品質の製品を得た。本技術は既存の大量生産型自動製パンラインを使用できることから、国産小麦粉の需給率向上に役立つものとする。「ホクシン」以外の国産日本麵用粉についても、本技術が適用可能であるかを検討中である。

1. はじめに

現在、我が国の食料自給率は4割程度と先進国の中で最も低く、中でも麦類は大部分が輸入で賄われている。そこで、政府は自給率の向上を図る必要から、農業活性化対策を推進した結果、小麦の生産量は増加傾向にある。しかし、国産小麦の大部分は含まれるタンパク質の量や性質が需要の多い製パンには必ずしも適しておらず、利用に課題が残されているのが現状である。国産小麦の自給率を高めるには、生産、加工の両面から消費者が求めている製品を食卓に安定的に供給する必要がある。そこで本技術開発は、国産小麦粉による製パン性の向上を目指した。

まず、日本におけるパンの生産量の約1/2を占める食パンに着目し、既存の大量製パンラインを用いた製造により、従来の外国産小麦粉と同等の品質を有する製品の開発を試みた。その際、大量生産ラインに適応させることを考慮し、生産量の半分を占め、全国に流通している「ホクシン」を国産小麦粉の原料として用いた。

一般的に「ホクシン」など日本麵用の国産小麦粉でパンを作った場合、ミキシング耐性、ガス保持力、機械成形性が劣り、発酵が遅い

ARAI Chiaki¹, HIROSE Rieko²,

SHIBATA Tomoko¹, TANGE Mikiko¹

¹〒103-0001 中央区日本橋小伝馬町20-3

²〒101-0025 千代田区神田佐久間町1-9

などの問題があり、出来たパンは膨らみが悪く、風味、食感、老化などの点から品質的に高い評価が得られていない。

アサマ化成では小麦タンパク質のグルテンよりグリアジンを主成分とする画分（以下、グリアジン画分とする）を工業的に分離する技術を開発し¹⁾、外国産小麦粉を用いた製パンにおいて生地形成時間の短縮や老化抑制効果²⁾、生地の伸展性の向上や機械成形性の向上^{3)・4)}などの改良効果を見出している。

そこで今回、国産小麦粉の製パン性向上について検討し、国産の日本麵用粉によるパンの大量生産技術⁵⁾を開発したので、その結果を報告する。

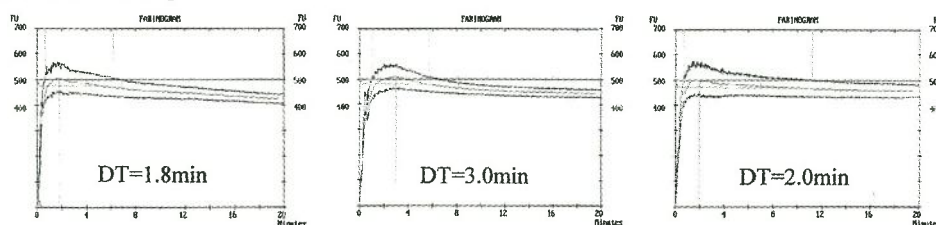
2. グリアジン画分による生地物性改良効果

図1に示したように「ホクシン」のファリノグラムは、外国産小麦粉（パン用強力粉）に比べて、生地の形成時間（Development time）は早い安定度（Stability）が低い。

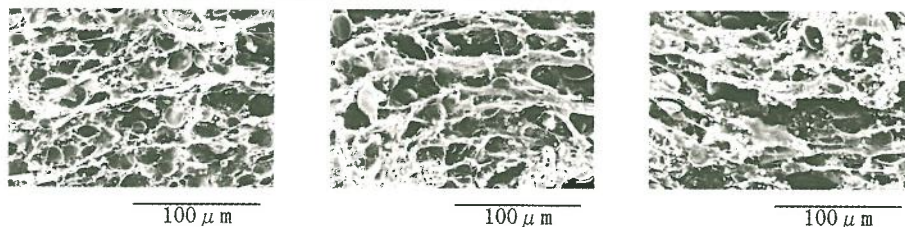
Development time (DT) 時の生地内相を走査型電子顕微鏡 (SEM) により観察したところ、グルテンネットワークが細く、切断されている部分が認められた。

さらに、「ホクシン」へ製パン用に使用される硬質小麦から製造されたカナダ産グルテンを3%添加した場合、生地形成時間に顕著な変化は認められず、DT時の生地内相は、

[ファリノグラム]



[Development time (DT) 時の生地内相のSEMによる観察]



[エクステンソグラム]

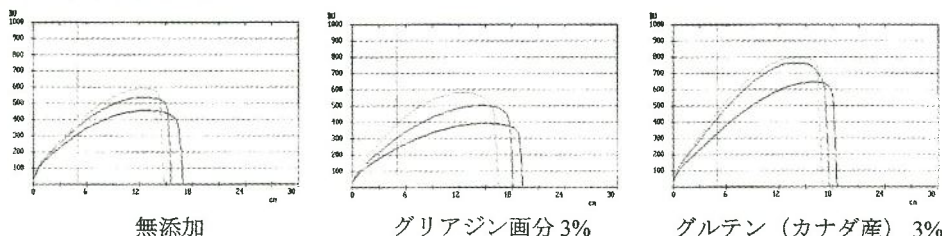


図1 生地物性および生地形成時内相の微細構造に与える小麦タンパク質の影響

グルテンネットワークが不均一で、切れている部分も観察された。エクステンソグラムでは、無添加に比べ、伸長度に変化はみられず、伸張抵抗は大きく増加した。

これに対して、「ホクシン」にグリアジン画分を3%添加した場合、生地形成時間が大きく変化し、グルテンネットワークが均一かつ緻密に発達していた。エクステンソグラムでは、伸張抵抗はほとんど変化せず、伸長度が大きく増加した。

以上の結果より、グリアジン画分が「ホクシン」で調製した生地のグルテンネットワークを発達させ、生地の伸展性を向上させることを明らかにした。

3. グリアジン画分による製パン性改良効果

標準中種法により実験室規模で製パン試験

を行い、その物理的性状を測定した。

「ホクシン」にグリアジン画分を3%添加した場合、無添加の場合と比べ、体積が高くなり、外国産小麦粉を用いた場合と同程度となった(図2)。

ブルマン型食パンについての力学的特性を比較した結果(図3)、無添加に比べて、外国産小麦粉の食パンは圧縮応力が低く、凝集性が高かった。これに対して、グリアジン画分添加では無添加よりは改善されているが、外国産小麦粉に比べると、圧縮応力が高く、凝集性が低い、即ち、硬く、復元力が低いことが示された。

食感的にも、外国産小麦粉が柔らかく、復元性がよく、口溶けが良いのに対して、グリアジン画分添加は、硬く、ボソボソし、口溶けが悪い。

原因としては、図4に示したように中種の発酵不足が考えられた。無添加およびグリアジ

ン画分添加は、外国産小麦粉に比べて、中種の膨倍が低く、生地温度が上がらない。また、発酵中の生地からガスが漏洩し、中種の生地容積の減少が観察された。

4. グリアジン画分の中種改良による製パン性改良

生地のグルテン形成を改善し、外国産小麦粉と同等に中種のガス保持力を高め、焼成後の体積向上と内相の改善を図るため、中種改良の検討を行った。

酸化剤として添加するアスコルビン酸を100ppmと通常より多くし、通常では本捏の際に添加する食塩の全量を中種に添加することで生地にミキシング耐性を付与し、生地をデベロップさせた。さらに、イースト添加量を2.5%とし、捏ね上げ温度を27℃に高め、発酵を促進させた。これらにより、図4に示

したように、中種の膨倍のピークが外国産小麦粉と同じになり、以降のガスの漏洩が防止され、中種発酵中の生地温度のピークも標準中種法より高くなった。

発酵後の中種の内相組織をSEMで観察した結果、無添加ではグルテンネットワークの網状構造は細く、ところどころ切れている。これに対して、グリアジン画分を添加した中種改良の内相のグルテンネットワークは細い紐状の繊維の束が太い網状構造を形成し、外国産小麦粉（標準中種法）の中種のグルテンネットワークより緻密であることが観察された（図5）。

同条件での製パン試験の結果を図2に示した。中種改良の結果、体積は飛躍的に向上し、パン内相の力学的特性の測定結果より（図3）、標準中種法に比べて、圧縮応力が低く（柔らかく）、凝集性（復元力）が高くなり、外国産小麦粉の力学的特性に近づいた。

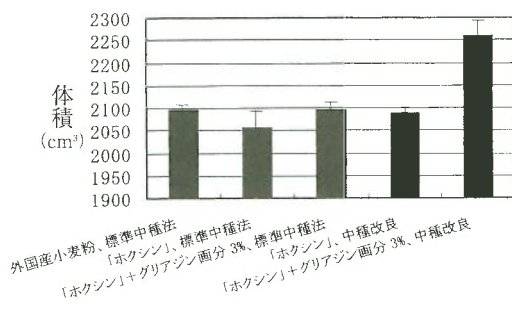


図2 食パン（ワンローフ）の体積に与えるグリアジン画分の影響

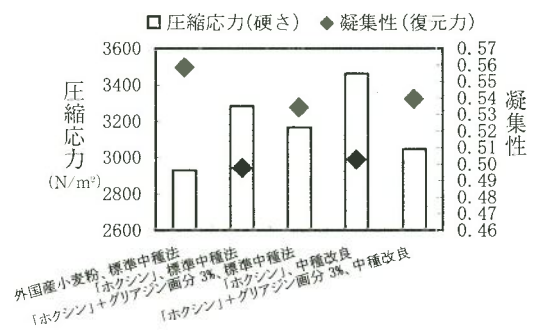
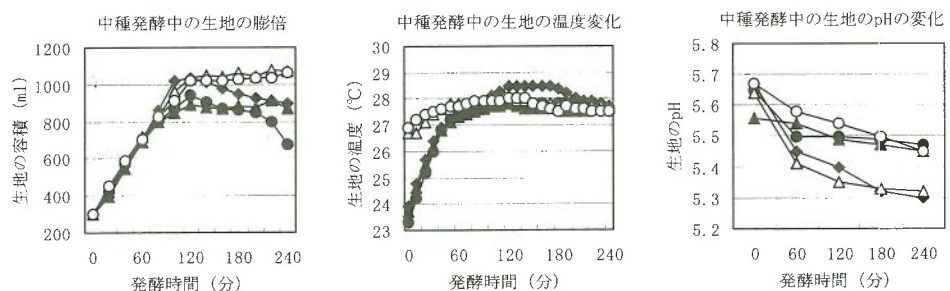


図3 プルマン型食パンの力学的特性に与えるグリアジン画分の影響



◆, 外国産小麦粉, 標準中種法; ▲, 「ホクシン」, 標準中種法;
●, 「ホクシン」+グリアジン画分 3%, 標準中種法; △, 「ホクシン」, 中種改良
○, 「ホクシン」+グリアジン画分 3%, 中種改良

図4 標準中種法および中種改良による中種の発酵過程の変化

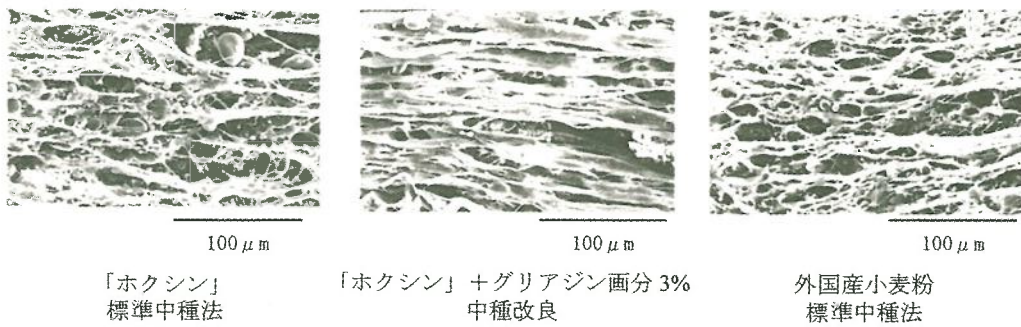


図5 中種発酵後の生地内相の微細構造（中種改良）

グリアジン画分を添加せず、中種改良を行った場合、中種の膨倍は、「ホクシン」にグリアジン画分を添加した際と同じく、外国産小麦粉と同等となるが（図4）、中種発酵中の生地温度のピークはこれより若干ではあるが低くなった。パン内相の力学特性は、無添加では中種改良を行っても外国産小麦粉だけでなく、無添加の標準中種法よりも硬く、復元力の低さは全く改善されなかった（図3）。

5. 自動製パンラインにおける従来技術との比較

既存の大量生産ライン（株式会社オシキリ研究開発部実験工場）において、外国産小麦粉を使用した従来技術との比較試験を行った。

自動製パンラインにおいては、実験室試験より体積が低下する傾向がみられたため、これを改善する目的で酵素の配合の検討を行った。その結果、 α -アミラーゼ、ヘミセルラーゼおよびグルコースオキシダーゼを本捏の際、添加することによって、外国産小麦粉と比較して、ワンローフ食パンの体積が大きく（図6）、内相が柔らかくなった。さらに、内相の気泡の細かさや気泡膜の薄さが外国産小麦粉使用の従来技術と遜色のない品質となり（図6）、経時的な内相の硬化や官能評価についても同様の結果となった。

6. おわりに

日本麺用に使用されている国産小麦粉（ホクシン）で製パン試験を行う際、グリアジン

国産小麦「ホクシン」による開発技術の製品（グリアジン画分3%配合、中種改良）



「外国産小麦」による従来技術の製品（標準中種法）

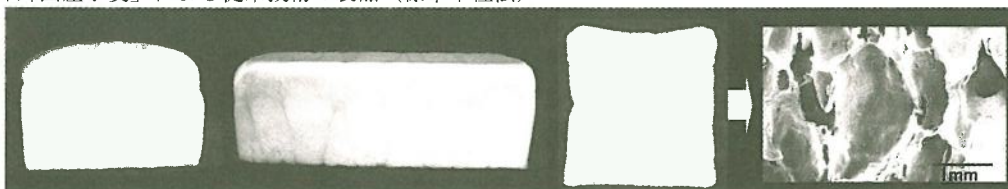


図6 自動製パンラインによる「ホクシン」使用の製品

画分を添加し、中種を改良した結果、中種の発酵耐性が改善され、発酵中のガスを生地内に十分保持できるようになった。さらに、イースト量を増加、捏ね上げ温度を高め、発酵条件を改善した結果、発酵が促進され、外国産小麦粉と同等の発酵状態となった。これらにより、グルテンネットワークは細密化、薄層化するとともに気泡膜は薄くなり、生地の伸展性・柔軟性が増すことで、パンの体積が増加し、内相の力学的特性が外国産小麦粉を使用した製品に近づいたものと推察した。さらに、発酵を十分に行っているため、風味も良好となった。これらにより既存の製パンライン、工程時間内において、国産小麦粉でパンの製造が可能となった。

さらに、中種の発酵状態を把握することで、温度・時間などの条件の組み合わせは変更が可能であり、目的とするパンの品質によって、本捏の酵素配合やその他副原料による商品開発が可能である。

また、「ホクシン」以外の日本麺用に使用されている国産小麦粉、例えば、一部の県産

別の「農林61号」についても、同条件でパンの製造が可能であることが示唆されている。今後の課題として検討したい。

本技術開発は、農林水産省平成14年度国産農産物利用食品産業技術開発支援事業により行われたものである。

文 献

- 1) 矢嶋瑞夫：日本特許第2954542号，1999年7月16日
- 2) 新井千秋，若林素子（1999），食品と科学，41，37-46
- 3) 鈴木実，阿部重春，矢嶋瑞夫，古橋樹雄，新井千秋，柴田朋子：特開2003-116451
- 4) 新井千秋，柴田朋子，佐藤健，廣瀬理恵子，鈴木実，阿部重春，高野博幸（2002），日本食品科学工学会第49回大会講演要旨集 p.81
- 5) 廣瀬理恵子，佐藤健，矢嶋瑞夫，古橋樹雄，新井千秋，柴田朋子：特願2002-371048



ブレインテクノニュース
バックナンバーのご案内
第95号
2003年3月15日発行

総 説

イネゲノム塩基配列重要部分の高精度解読終了とその意味
.....佐々木卓治

国内情報

イネミトコンドリアゲノムの全構造決定
.....西川智太郎・門脇光一
ホウ素トランスポーターの同定と植物のホウ素輸送における
役割.....三輪京子・藤原 徹
コメの糊化特性にアミロペクチンの側鎖構造を支配する遺伝子
が関与していることを解明.....中村保典

珪藻に感染する新奇ウイルスの発見.....長崎慶三
催涙因子合成酵素「LFS」の発見と、「涙の出ない新しい
タマネギ」の開発.....今井真介・柘植信昭・朝武宗明・
永留佳明・澤田 博

細断型ロールペーラの開発.....志藤博克
地域の先端研究

新しい肉用アヒル「大阪種」.....出雲章久・笠井浩司

文献情報

異なる細胞種由来のクローンウシにおけるテロメア長の
著しい違い.....(抄訳：下司雅也)
ポリアクリルアミド及びアルギン酸に固定化したβ-グルコシ
ダーゼの熱及びタンパク質分解安定性.....(抄訳：西村新吾)
タコ筋肉中のタンパク質分解酵素の性状と超高压処理による
影響.....(抄訳：木村郁夫)

海外便り

潮間帯湿地雑草における植食性昆虫と天敵類の群集生態学
—米国メリーランド大学における半年間—.....松村正哉

◀文献情報▶

卵丘細胞を用いた核移植胚由来子牛におけるドナー細胞由来ミトコンドリアDNAの増加

Proliferation of donor mitochondrial DNA in nuclear transfer calves (*Bos taurus*) derived from cumulus cells.

Kumiko Takeda¹, Satoshi Akagi¹, Kanako Kaneyama², Toshiyuki Kojima², Seiya Takahashi¹, Hiroshi Imai³, Mariko Yamanaka¹, Akira Onishi⁴, and Hirofumi Hanada⁵

¹National Institute of Livestock and Grassland Science, Ibaraki, ²National Livestock Breeding Center, Fukushima, ³Kyoto University, Kyoto, ⁴National Institute of Agrobiological Science, Ibaraki, ⁵Tokyo University of Agriculture, Kanagawa.

Molecular Reproduction and Development, 64, 429-437 (2003)

ミトコンドリアDNAは、酸化リン酸化や電子伝達系によるエネルギー産生に不可欠な遺伝子を持つ。また、ミトコンドリアの遺伝子は、マウスの成長、ホルスタインの泌乳量、肉用牛の繁殖等に影響を与えることが知られている。一方、除核卵子にドナー細胞を電氣的に融合させる方法による核移植子牛が誕生している。ウシ卵子には 2×10^6 コピーのミトコンドリアDNAが存在し、一方、多くの体細胞中には数千のミトコンドリアDNAのコピーが存在するといわれていることから、核移植胚の作製においては、ほとんどのミトコンドリアDNAはレシピエント卵子に由来し、ドナー細胞由来のものはほんのわずかであると考えられる。事実、他の研究室における報告においては、クローン動物の体細胞において、ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAは排除されるか、あるいは当初の量が維持されるのみであるとされてきた。し

かしながら、核移植胚作製においては、ドナー細胞とレシピエント細胞とを融合させることから、ミトコンドリアはヘテロの状態となり、ミトコンドリアの導入は、クローン動物の表現形の変化として観察される可能性がある。そこで、筆者らは、体細胞核移植胚や体細胞核移植由来子牛における、ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAの分布について検討した。まず、蛍光標識したドナー細胞のミトコンドリアは、融合直後の核移植胚の細胞質内で鮮明に確認できた。しかしながら、核移植24時間後においては、蛍光は検出限界以下となった。次に、ミトコンドリアDNAの違いを明らかにし、レシピエント卵子中のドナー細胞ミトコンドリアDNAを追跡するのに有効な指標となるDループ領域の変異をPCR-SSCP法により検出し、様々な種類の体細胞を用いた核移植胚や核移植胚由来子牛におけるドナー細胞由来ミトコンドリアDNAを追跡した。その結果、ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAは、融合直後の核移植胚においては検出できなかった（3～4%以下のレベル）ものの、核移植胚由来子牛の9頭中3頭において、ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAが6～40%のレベルで検出された。体細胞核移植由来子牛においては、ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAは、レシピエント細胞由来ミトコンドリアDNAよりも有意に複製されうる可能性のあることが明らかとなった。

ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAが核移植胚由来産子において検出されたことから、ドナー細胞由来ミトコンドリアDNAを高率に生殖系列に乗せうる可能性がうまれた。ミトコンドリアDNA複製時に、どのような形で選択がおこるのかははまだ不明であるが、複製時のコントロールが可能となれば、真のクローンが作製できることとなる。また、外来性のミトコンドリアDNAが、核移植胚の発育や核移植胚由来産子の表現形に及ぼす影響を明らかにできる可能性も生まれた。（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▶

糸状菌*Neurospora crassa*
のゲノム配列

The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa*.

Galagan JE, Calvo SE, Borkovich KA, et al. Whitehead Institute Center for Genome Research, USA.

Nature, 24, 422, 859-868 (2003)

出芽酵母*Saccharomyces cerevisiae*, 分裂酵母*Schizosacchomyces pombe*と真菌のゲノム配列が次々と明らかとされるさなか、ついに糸状菌としては初めてアカパンカビ*Neurospora crassa*のゲノム配列が明らかにされた。

*Neurospora crassa*は、20世紀の遺伝学、生物化学、分子生物学の歴史において糸状菌のモデル生物として解析されてきた中心的な生物種である。本論文により、その90%が解読完了した約40Mbのゲノムには、約10,000個のタンパク質をコードする遺伝子が存在することが明らかにされた。その数は*S. pombe*の2倍以上であり、ショウジョウバエ*Drosophila melanogaster*より約25%少ないだけであった。遺伝子セットの解析により、*Neurospora*の生物的性質の意外な側面が明らかにされた。例えば、*Neurospora*では発芽の既日リズム、菌糸のカロチノイド産生や成長に重要な制御因子として青色光が知られているが、原核生物で赤色光への応答に関与するバクテリオフィトクロムや糸状菌*Aspergillus nidulans*において赤色光および青色光応答の制御に関与するvelvet遺伝子のホモログが見出されたことから、これまでに報告のない赤色光による光生物学的影響を受けている可能性が示された。

また、*Neurospora*のゲノム中には25個のCa²⁺シグナル伝達に必要なとされるタンパク質が見出されているが、細胞質へのカルシウムの遊離に必要なセカンドメッセンジャーであるInositol-1,4,5-triphosphateの受容体、cADP riboseの産生に必要なADP ribosyl

cyclaseがそれぞれ欠落していることが明らかとされた。つまり、糸状菌においては新たなセカンドメッセンジャーの存在が示唆され、植物や動物細胞と比較して糸状菌にはCa²⁺シグナル伝達系に重要な差があることが明らかとなったのである。

*Neurospora*では他の真核生物で知られているものより幅広いゲノム防御機構として菌類に特有の現象であるRIP (repeat induced point mutation)の機構の存在が知られている。RIPは、有性世代を経る際に自身のゲノムに存在している80%以上の相同性を有する鎖長約400bp以上の重複配列に対して高頻度にC:GからT:Aに塩基置換を引き起こす現象であり、RIP変異を受けた配列は終止コドンとなったり、たびたびDNAメチル化のターゲットとなることから遺伝子の不活性化が引き起こされる。ゲノム解析の結果、RIPがゲノム重複の際に新しい遺伝子の出現を遅めることで、近縁遺伝子の存在割合が極めて低いゲノムとなり、*Neurospora*のゲノムの進化に非常に大きな影響を与えてきたことが示唆された。

*Neurospora*は、腐生植物栄養性であり植物病原性を持たないが、ゲノム中には植物細胞壁分解酵素、植物の防御機構の打破に必要な数多くのチトクロームP450、ポリケタイド合成酵素などの植物への感染に必要な遺伝子群が一通り保存されており、植物病原性は遺伝子機能や発現がほんの少し異なることに起因することが示された。

*Neurospora*のゲノム配列の決定は、糸状菌の生物的多様性の遺伝子的な基礎を垣間見たに過ぎないが、現在進行している数々の糸状菌のゲノムシーケンシングが決定されることでさらに視野が広まり、様々な比較解析が可能となってくると考えられる。この糸状菌の生物学の新たな時代の到来により、すべての真核生物に共通する根本的な細胞プロセスの理解がさらに深まっていくものと考えられる。

(抄訳：織田 健, ODA Ken, 独立行政法人酒類総合研究所)

◀文献情報▶

都会のポプラと田舎のポプラ

Urbanization effect on tree growth in the vicinity of New York City.

Julian w. Gregg, Clive G. Jones and Todd E. Dawson

Nature 424, 183-187 (10 July 2003)

「都会の木と田舎の木ではどちらが大きくなると思いますか?」と聞かれて、「田舎に決っている。都会の空気は汚いし、木は元々田舎に生えているものだし、そんなの常識だ。」と答えはしませんか? 実は私もそう思い込んでいました。ところが、冷静に考えると、都会地ではNO_x, SO_xあるいは重金属濃度は高いという植物の生育にマイナスに働く要因があることは言うまでもありませんが、炭酸ガス濃度が高く、気温が高いという生育にプラスに働く要因もあるにはあるのです。総合的にすると、プラス・マイナス、どちらに転ぶのでしょうか?

ポプラの一種アメリカクロヤマナラシ(成長が早い環境指標植物、日本にも家具材として輸入)を、大都会ニューヨークと約100km東のロングアイランド島および100km北のハドソン峡谷に遺伝的に全く同一のクローンを植栽し、1992年から1994年までの成長量を比較してみたところ、何と驚く無かれ、ニューヨークのポプラは峡谷や島のものの2倍も成長するのです。NO_x, SO_x濃度が10倍も高いにもかかわらずです。

犯人探しが始まります。土壌の違いによるのではないか。生育地の土壌を入れ替えてみますが、生育量に差はありません。ニューヨークは島や溪谷に比べ、気温にして平均1.8℃、炭酸ガス濃度にして50ppm高く、これらは光合成量を増大させる方向に働くので成長量が高いという可能性があります。人工気象器でこの条件を再現してみても、呼吸による損失も増大するため生育量に変わりはありませんでした。これも犯人ではありません。

溪谷や島よりもニューヨークでの濃度が低

い大気汚染物質が一つあります。オゾンです。オゾンは都会地で発生し、周辺各地に拡散していきます。それなら、都会地の濃度が高いのじゃないのかわかるとは思われますが、同時に発生する多量のNO_xがオゾンと反応し、オゾン濃度を低下させるので、都会地のオゾン濃度は周辺地より低いのだそうです。生育各地のオゾン濃度と生育量をプロットすると、見事に直線を描き、高い相関関係があることを示しました。犯人はオゾン。

ニューヨークの方が木の生育がいいなんて、予想外の結果です。著者もそうであったらしく、期待に反してと書いています。常識いや感覚で思い込んでいることの何と多いことか! そういや、東京のど真中の明治神宮や皇居の樹木は元気ですものね。日本でも東京と日光で樹木生育量を調べたらどうなるのでしょうか。田舎のネズミは都会に合わずに逃げ帰りましたが、田舎のポプラは都会に住み着くのでしょうか。林業よ、山を捨て町へ出よう。

(抄訳: 岩井 純夫, IWAI Sumio, 鹿児島大学農学部)

◀文献情報▶

OsTB1はイネの分げつ成長を負に制御する

The OsTB1 gene negatively regulates lateral branching in rice

Taito Takeda¹, Yuko Suwa¹, Makoto Suzuki¹, Hidemi Kitano², Miyako Ueguchi-Tanaka¹, Motoyuki Ashikari¹, Makoto Matsuoka¹ and Chiharu Ueguchi¹

¹Bioscience Center, Nagoya University

²Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University

The Plant Journal 33, 513-520 (2003)

OsTB1はトウモロコシのTEOSINTE BRANCHED 1 (Tb1) との配列の相同性検索から単離された遺伝子である。tb1の機能欠損変異体は、多数の分げつを分化し、TB1遺伝子は分げつの制御に関して抑制的に働くことが知られている。また、TB1はbasic helix-loop-helixタイプのDNA結合モチーフであるTCPドメインをもつ転写因子である。筆者らは既に配列が明らかとなっていたOsTB1遺伝子に関し、イネにおける機能および発現解析を行った。

マッピングの結果、OsTB1は第3染色体の下端、OSHI遺伝子の近傍に座乗することがわかった。イネの第3染色体は、TB1が座乗しているトウモロコシの第1染色体と対応関係が強いこと、また、TB1がOSHIとオーソログな関係にあるKNOTTED1の近傍に座乗することから、OsTB1がTB1のカウンターパートであることが強く示唆された。

次に筆者らは、OsTB1 ORFをイネで構成的に発現するアクチンプロモーターにつないだコンストラクトを作成し、野生型イネに導入したOsTB1過剰発現体を作出した。形質転換体では分げつ数が0~2本に減少したものの(コントロールでは6~7本)、葉腋には各節ごとに分げつ芽が正常に分化していた。このことは分げつの制御に関して、OsTB1が分げつの成長を抑制するものの、分げつ芽の分化に関しては関与しないことを

示している。

過剰発現体で分げつの制御が抑制されていたことから、OsTB1の機能欠損型変異体ではトウモロコシのtb1同様に分げつ数が増えることが予想される。このタイプの表現型を示すイネの1つである*fine culm 1 (fc1)*は、染色体上の座乗位置をOsTB1と共有しており、fc1がOsTB1のアリルではないかと考えられた。そこで筆者らは、fc1変異体のアリルであるM56、F253系統におけるOsTB1 ORFのシーケンスを行った。その結果1塩基のデリレーションによるフレームシフトが見つかり、DNA結合活性に重要であるTCPドメインは完全に失われていた。また、RT-PCR解析によるfc1でのOsTB1の発現量は、野生型の半分以下に減少していた。このことからfc1はOsTB1のヌルのアリルであると考えられる。なお、fc1変異体は野生型に比べ約3倍の数の分げつを分化する。その一方で、密植および深植えなどの環境条件では、野生型同様にその分げつ数が減少した。このことは、分げつの制御に関して、OsTB1以外のファクターが存在することを示唆する。

最後に筆者らはOsTB1プロモーターGUSを用い、野生型イネでのOsTB1の発現解析を行っている。その結果、GUS発現は分げつ芽全体、茎頂分裂組織の基部(一部)、維管束組織、柔組織およびラミナジョイントにおいて見られた。

OsTB1による分げつの成長制御が、オーキシンやサイトカイニンの制御を通じた間接的なものなのか?あるいは転写因子として細胞周期を制御することによるものなのか?はたまた、これらとは全く異なる機構によるのか?まだその答えは明らかとなっていない。また、MOC1など他のファクターの存在や、それらとの関係など未知な部分は数多い。科学面だけでなく農業的な面でも重要な意味を持つ分げつ制御のメカニズムについては、包括的な説明ができるようになるには、まだ多くの研究が必要となつてこよう。

(抄訳:丸尾 嘉宏, MARUO Yoshihiro, 東京大学 大学院 農学生命科学研究科)

◀文献情報▶

粉末モデルにおけるゼイン 2次構造におよぼす水分活 性と脂質の影響

Effects of Water Activity and Lipid Addition
on Secondary Structure of Zein in Powder
Systems

Yukiko Mizutani,^{*a} Yasuki Matsumura,^a
Koreyoshi Imamura,^b Kazuhiro Nakanishi,^b
and Tomohiko Mori

^aLaboratory of Quality Analysis and
Assessment, Division of Agronomy and
Horticulture Science, Graduate School of
Agriculture, Kyoto University, Uji, Japan

^bDepartment of Bioscience and Biotechnolo-
gy, Faculty of Engineering, Okayama
University, Okayama, Japan

J. Agric. Food Chem., 51, 229-235 (2003)

生理活性に富むn-3およびn-6系の高度不飽和脂肪酸を一般的な食品に添加・応用する際の最大の問題点は分子内二重結合に由来する酸化による劣化であるが、この酸化を抑制する手段としてマイクロカプセル化は有効であることが知られている。穀類のプロラミン類は酸化抑制効果を有するマイクロカプセル化基材として注目を浴びている。しかしながら、これらのプロラミン類の酸化抑制効果のメカニズムについては、未だに明確になっていないのが現状である。本報告で著者らはゼインとn-6系のリノール酸エチル (LAE) およびn-3系のエイコサペンタエン酸エチル (EAE) の複合体を調製し、水分活性によるゼイン2次構造の変化をFT-IRにより観察し、その構造変化を詳細に調べている。

結果、ゼイン単体では水分活性の低い状態では強固な分子内水素結合による β シートが存在し、いわば凝集した状態にあるが、水分活性があがるにつれ β シートの減少と同時に α ヘリックスと β ターン構造が増加する、すなわちリフォールディングの状態に近づくことが確認された。LAEの添加により高水分活性下ではゼインの α ヘリックスと β シート

の減少が観察され、LAEが疎水性の高いゼイン α ヘリックス部分への吸着および逆方向の β シート結合間に入りこむが示唆された。これらの高水分活性下におけるゼインとLAEの強い相互作用は低水分活性下においては確認されなかったことから、水分活性があがることによるゼイン凝集体の部分的な解離がLAEとゼインの相互作用には重要であることを示している。これは今までの報告にあるゼインは高水分活性の条件下でリノール酸の脂質酸化を抑制するという現象の理由として、水分によるゼイン凝集体の部分解離と脂質によるゼイン2次構造の変化が大きく関与していることを示すものである。しかしながらLAEに比較して酸化抑制効果が低かった。EPEの場合は高水分活性下、低水分活性下ともにゼインの2次構造にはほとんど影響を与えていなかった。EPEとLAEは鎖長および二重結合の位置、数共に異なった脂肪酸のエチルエステルであるが、これらの相違のうちどの部分が影響してゼインの2次構造変化を引き起こさなかったのかについては更なる研究が必要である。また、ゼインと魚油の包摂体を加熱することにより酸化を抑制するとの報告もあることから、新たな相互作用も考えられるところである。

食品は各成分からなるミクスチャーであることが研究対象として興味深い点でもあり難しい点でもある。本報告はミクスチャーとなって初めて生じる酸化安定性という、脂質、蛋白質および水の相互作用を明確に示したものである点が興味深い。また、EPAやDHAのようなn-3系の不飽和脂肪酸を含む脂質はFAOが理想的なn-3とn-6の比率を推奨したこと、日本のみならず欧米の主要な粉乳製品にDHAが添加され始めたこと、といった事実にもみられるように世界的にその有用性が認められてきている。今後、これら脂肪酸の栄養学的特長を広く享受していくためにもその最大の問題点である酸化を抑制する技術の開発が待たれるところである。

(抄訳：郡山 剛, KORIYAMA Tsuyoshi, 日本水産株式会社 中央研究所)

◀海外便り▶

ウンカの飛来を高精度に予測せよ —米国立大気研究センターでの一年間—

独立行政法人 農業技術研究機構 中央農業総合研究センター
大塚 彰

1. はじめに

著者は2002年6月から1年弱の期間、アメリカ合衆国コロラド州ボルダーにある国立大気研究センター（NCAR；National Center for Atmospheric Research）で気象数値モデルを用いたイネウンカ類の長距離移動の研究を行った。ウンカはイネの害虫であり、梅雨の時期に低気圧の強風域の中を飛んで日本へやって来ることが知られている。その飛来を高精度に予測するためには、気象場をできるだけ正確に予報できるこ

とが必要であった。公開されている気象数値モデルの内、性能、信頼性、公開度、サポートの有無などを考慮してNCARで開発された気象モデルMM5を使用することとし、研究を効率的に推進するためにボルダーへ出張した。結論を先に言うと、滞在期間中に開発したウンカ飛来予測システムによって、2003年の九州地方への初飛来を予測することができた。現在詳細な評価を行っているところである。以下は滞在期間中に著者が感じたことをいくつか紹介する。

OTUKA Akira

〒305-8666 茨城県つくば市観音台3-1-1

2. Boulder

滞在したボルダーという町はアメリカ大陸中央を南北に走るロッキー山脈のふもとに位置し、標高が1800mもあり、気圧が820hPa程度で空気が薄い。そのため一般には高橋尚子など一流マラソン選手が高地トレーニングを行うところとして知られている。ボルダーは大学町で、中心部にはコロラド大学のキャンパスがある。その他NOAAやNISTなど国立研究所やIBM、SUNなどの事業所もあり、学歴、治安、給与が

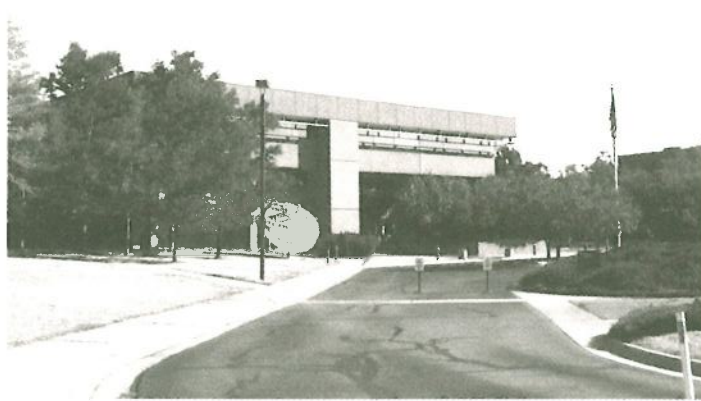


写真1 米国立大気研究センター

高水準の町でもある。その結果物価がサンフランシスコ並に高いと同僚たちはぼやいていた。生活してみてもまず驚くのは毎日天気がいいこと（晴天日が年間300日以上）、そして空気が乾燥していることである。6～8月は確かに強い日差しで日中は暑い、乾燥しているので不快指数は思ったほどに高くない。高地であるので夕方になると涼しくなると、過ごし易かった。

また自然が豊かな町である。町はいたるところに緑が残されており、木々の間をリスが遊び回っている（写真2）。家の周りには時々鹿が散歩しており、ある夏の朝、通勤途

中でりっぱな角の生えた雄鹿に出くわした。朝日の逆光に角が輝いていて美しかった。町の郊外にはプレーリードックのコロニーがいたるところにある。また畜産が盛んで、ラマなどめずらしい家畜に遭える。馬牧場も多く、馬たちがロッキーを背景に走り回る姿は美しい。秋になると落葉樹が一斉に色づき美しい。冬、雪は思ったより少なく、積雪しても日中の日差しで解けてしまう。このように生活をするのにとってもいい環境であり、毎日自転車で気持ちいい風を切りながらNCARへ通った。

3. NCAR

国立大気研究センター（写真1）はNSF (National Science Foundation) から資金を受けて、UCAR (University Cooperation for Atmospheric Research) によって運営されている。運営母体のUCARは1959年に複数の大気科学の大学、研究機関によって設立された非営利の大学法人で、単独の大学で

はできない規模の大きな計算や観測能力を補強するために設けられた。現在66の会員大学や研究機関から構成されている委員会によって運営されている。2001年度の予算規模は約177億円。スタッフの数は約1000人規模。IBMとSGIのスーパーコンピュータと500テラバイトの大規模データ保管システム、観測用航空機などを所有する。

5年後ごとに機関評価があり、次の5年もUCARが運営すべきかどうか決定される。2002年度はちょうど評価年であり、評価結果は上々で、次の5年間もNCARはBoulderの地で生き残ることとなったようである。この辺りの運営手法は独立行政法人のそれと同種

である。

NCARには9つの研究部があり、その中のMesoscale and Microscale Meteorology Division (MMM) のMesoscale Prediction Group (MPG) が著者の所属したグループである。MPGはDr. Bill Kuoをヘッドとして6人の科学者が所属し、メソスケールの気象モデルの開発やGPS気象学の研究を推進している。気象数値モデルMM5を開発したのも主にこのグループである。NCARには米国内外から多くの研究者、ポスドクやドクターコースの学生が滞在し、セミナーやワークショップが数多く設けられ、正に気象学のセンターとなっていた。国際共同研究も活発で、アジア関連では台湾、中国、韓国と緊密に共同研究を行っていた。2008年の北京オリンピックの天気予報はMM5を使って行うそうである。



写真2 ボールダーの街角にいたリス

期間中Dr. Jimmy Dudhiaに滞在のホストをお願いした。オフィスは一人部屋を提供され、また最も大きな提供はDr. DudhiaをはじめMPGの研究者たちとの議論に使われた時間である。

これらは研究推進に不可欠なものであったので感謝の意を込めてここに記す。ありがとうございました。

4. 気象数値モデルMM5

MM5とはThe Fifth-Generation Pennsylvania State University/National Center for Atmospheric Research (PSU/NCAR) Mesoscale Modelのことで、Pennsylvania State UniversityのR.A. Anthesらが70年代初めから開発した気象モデルの5代目で、現在NCARを中心に開発とサポートが続けられている。MM5はメソスケールの領域モデルの

ひとつであり、2002年12月現在41カ国、304の機関で利用されている最もユーザの多い気象モデルである。MM5の特徴を一言でいうと、天気予報業務に使える高性能のモデルであるということである。実際に世界中でいくつものMM5リアルタイム予報システムが稼働している。このような最先端モデルがソースコードを含めて公開されているので、研究目的に応じて改変することが可能であり、ユーザの幅広い指示を得ている。

5. オープンであること

研究と生活環境が^{すこぶ}頗る良かったので仕事はたいへん^{はかど}捗った。その中で最も強く感じたことは彼らが極めてオープンであることである。このオープンさはいくつかの意味がある。

まず、先にも触れたが、数値モデルという研究成果を完全にオープンにしている。彼らはMM5のことをCommunity Modelと称していた。モデル自身の研究をしたり、モデルの応用研究をしたり、予報に使用したりするCommunityのためのモデルということである。公開することで開発者自身も、モデルの評価を受けられたり、不具合を見つけてもらえたりして利益を得ている。このCommunity Modelの手法は大変評価されており、アメリカの次世代気象モデルは同様の手法を用いて、NOAA（行政）、NCAR、大学などさらに規模を拡大して組織的に開発している最中である。なにやら、戦争や宇宙開発でみられるように、アメリカが組織的に動くときの勢いをまじかで感じる事ができた。

それから異なる分野に対しても非常にオープンである。これはCommunity Modelの手

法の結果といえるのかもしれないが、モデルの応用は様々で、いろいろな分野の研究者がMM5を利用している。それで著者など農業の分野の者が飛び込みで訪れても、理解をして大変丁寧に指導してくれた。彼らにとっては農業応用などなんの得にもならないと推察するが、このオープンさは本当に頭が下がる。

それから極めつけは人材がオープンであることである。NCARには実に様々な国から来た研究者がいる。著者のグループは台湾、イギリス、香港、南アフリカ、中国など半分以上が外国籍の研究者であった。日系の研究者にもたくさん会った。ポストドクも世界中から集まっていた。科学に国籍は関係ないのである。我が所属する農研機構も優秀な人材をオープンに求めると組織が活性化するのではないかと思う。

最後には、性格のオープンさ。人々とはとにかくBoulderの天気のようにさっぱりして、陽気な感じがいい。すれ違う時のアイコンタクトのスマイルと「ハイ」の挨拶はとてもいい習慣だと思う（礼文化の日本では意識が床を向くので目を反らす？）。ハグなども日本にない習慣で、出発の時にお世話になった人たちに本場のハグをしてもらったのは、いい思い出となった。

以上のように様々なオープンさが強く印象に残っており、このオープンさがアメリカの科学の強さに繋がっているのだと認識した。

外に行くと否応なしに自分が日本人であることを認識し、自他の違いに自然に思いをめぐらすことになる。そういう体験を特に若い読者にお勧めして、アメリカ滞在のお話を終わることにする。

編集後記

第98号をお届けします。本号の総説では、最近話題になっている「アルコール濃度の低い清酒」開発について木曾邦明氏（独立行政法人 酒類総合研究所）に、新規酵母による低アルコール製品の開発について橋本建哉氏（宮城県産業技術総合研究センター）・伊藤謙治氏（宮城県酒造協同組合）に紹介していただきました。また、表紙写真には、膨らみが悪く美味しくないという評判の麺用国産小麦粉によるパンを、アサマ化成並びに都立食品技術センターの女性研究陣による技術開発の成功によって、外国産パン用小麦粉の製品と同等品質に変身させたパン製品を紹介させていただきました。これらに加え、内外の貴重かつ新鮮な研究情報を本誌にご執筆下さった研究者各位に、深甚の謝意を申し上げます。（畠山記）

訂正とお詫び

前号（97号）の目次および下記頁に誤記と脱字がありました。矢印、下線のように訂正・加筆いたしますとともに、関係各位にお詫び申し上げます。

目次：国内情報 1 行目

絹糸中に生理活性タンパク質を生産する → 産生

国内情報11行目

海苔の粘質多糖・ボルフリン → ポルフィラン

本文：国内情報11頁の要約の5行目

初めて明らか_____ → 明らかとした。

以上

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ください。

ブレインテクノニュース（第98号）

平成15年9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, 2003