

# BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

平成17年11月15日発行（隔月1回15日発行）  
ISSN 1345-5958

TECHNO NEWS

**No.112**

15 NOVEMBER, 2005

ブレインテクノニュース



## ねぎ収穫機の開発と利用状況

独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構  
生物系特定産業技術研究支援センター  
青 木 循

独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構

生物系特定産業技術研究支援センター（生研センター）



## 目 次

### 総 説

- 家畜ゲノム解析とその応用研究の最前線 ..... 1  
 佐々木 義之 (京都大学 大学院農学研究科)

### 総説関連情報

- 家畜遺伝性疾患に関するゲノム解析の現状と今後の展望 ..... 6  
 国枝 哲夫 (岡山大学 大学院自然科学研究科)
- ブタゲノム解析とその応用研究の現状と展望 ..... 11  
 粟田 崇 ((独) 農業生物資源研究所 ゲノム研究グループ)

### 国内情報

- 卵から雄のみがふ化する特別な蚕品種の育成 ..... 16  
 大沼 昭夫・井上 元 ((財) 大日本蚕糸会 蚕業技術研究所)
- ミトコンドリアDNA変異とアポトーシスの老化機構への関与 ..... 20  
 染谷 慎一・田之倉 優 (東京大学 大学院農学生命科学研究科)
- アグロバクテリウムT-DNAに秘められた「もう一つのチカラ」—細菌遺伝子産物の色素体  
 移行と代謝バイパス形成— ..... 25  
 榊原 均・笠原 博幸 ((独) 理化学研究所 植物科学研究センター)
- マツタケは遺伝的にモザイク ..... 30  
 村田 仁<sup>1</sup>・太田 明<sup>2</sup>・山田 明義<sup>3</sup>・成松 眞樹<sup>4</sup>・二村 典宏<sup>1</sup> (<sup>1</sup>(独) 森林総合研究所,  
<sup>2</sup>滋賀県森林センター, <sup>3</sup>信州大学 農学部応用生命科学, <sup>4</sup>岩手県林業技術センター)
- ねぎ収穫機の開発と利用状況 ..... 34  
 青木 循 ((独) 農業・生物系特定産業技術研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター)

### 文献情報

- 暑熱感作はウシ卵子の発生能を低下させるとともに紡錘体の形状を変化させる ..... 39  
 J. C. Ju et al. (*Theriogenology*, 64, 1677-1689, 2005) 抄訳: 下司 雅也
- 酵母*Pichia pastoris*を用いた酸性フィターゼの高発現 ..... 40  
 Xiong AS et al. (*J. Appl. Microbiol.* 98, 418-428, 2005) 抄訳: 和田純平

#### 表紙の説明

ねぎの収穫作業の省力化、効率化などを目的として、ねぎ収穫機が開発された。開発されたねぎ収穫機は、畝立栽培された白ねぎの掘取り、土落とし、収容までを1工程で行うことのできる自走式の乗用型収穫機である。収穫・結束・搬出までを行った場合の標準的な作業能率(ほ場作業量)は、1名作業で最大1.2a/h、2名作業で最大3.0a/h程度であり、慣行の人力作業に比べ軽作業となり、能率が3倍程度となった。さらに、追従型運搬車と組み合わせて利用することにより一層の軽労化が図られた。詳細については、34頁をご覧ください。

## ◀ 総 説 ▶

## 家畜ゲノム解析とその応用研究の最前線

京都大学 大学院農学研究科  
佐々木 義之

家畜のゲノム解析は、質的形質を支配する責任遺伝子のマッピング・同定や遺伝子診断による育種への応用の段階から、量的形質遺伝子座 (QTL) のマッピング、ファインマッピング、そして責任遺伝子の同定へと大きく歩を進め始めている。家畜のホールゲノムシーケンスは、この動きを一層推し進めるものと予想される。今後の更なる進展のために、異なるディシプリンの学問が連携・融合していくことが肝要である。

## 1. はじめに

最近のゲノム解析研究の進展は家畜の分野でも非常にめざましいものがある。昨年、わが国で開催された第29回国際動物遺伝学会議 (ISAG2004) におけるプレナリーセッション、ポスター発表、ワークショップなどにおいて、それら最新の研究成果や将来に向けての取り組みが報告され、参加者の間で活発な討論が行われた。同国際会議での発表を中心に、家畜ゲノム解析における最近のトピックスについて述べてみたい。

## 2. QTLマッピング

まず、量的形質の遺伝的解剖 (genetic dissection) が新しい局面を迎えている。これまで、ゲノム解析の進展によって形質を発現させている遺伝子を同定することができるようになり、遺伝性疾患をはじめ質的形質の責任遺伝子が数多く同定されてきた。さらに量的形質を支配する多数の遺伝子座の染色体上での位置を推定し、そこにある責任遺伝子の同定に関心が向けられている。

量的形質の発現を支配する遺伝子座 (QTL) の染色体上での位置を推定することをQTLマッピングと呼び、これによっていろいろな畜種

SASAKI Yoshiyuki

〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

のいろいろな量的形質について多数のQTL領域が検出されている。たとえば、肉牛の産肉性に関して表に示すようなQTL領域が多数報告されている。ここにはゲノムワイドレベルで有意であったもののみを示した。さらに、ISAG2004ではいろいろな畜種について新たなQTL領域が多数報告された。

表の結果にもみられるように、同じ形質に関与するQTLが数多く検出されているが、従来のQTLマッピング法では単一のQTLごとに推定が行われており、QTL間の相互作用すなわちエピスタシスは考慮されていない。近年、QTL間のエピスタシスが注目されるようになり、複数のQTLを取り上げたQTL解析法の開発が進められている。その一つである遺伝アルゴリズムに基づく複数QTL解析法を用いて、ニワトリの体重および増体量に関与するエピスタシスが検出されている (Carlborgら, 2003; 2004)。その一例を示すと、ニワトリの孵化時体重に対して第1染色体の337cMの位置にある遺伝子座1と第14染色体の11cMの位置にある遺伝子座2が関与していて、遺伝子座1が $J_1J_1$ 遺伝子型の時には遺伝子座2における遺伝子の作用は $J_2$ が $L_2$ に対してプラスに働くが、遺伝子座1が $L_1L_1$ 遺伝子型の時には逆に $L_2$ が $J_2$ に対してプラスに働いている (図1)。さらに、YiとXu (2002) は近交系間交雑家系データに適用できる複数QTLのベイズ推定法を開発した。成田と佐々木 (2004) はいずれもQTL主効果

表 肉牛の経済形質に関するQTLマッピング

形質	頭数	雄牛の品種構成 <sup>a</sup>	位置 <sup>b</sup>	文献
生時体重	300	HF x BR	Chr.1: 115	Stone et al. (1999)
"	151	AG x compo.	Chr.2: 114	Grosz and MacNeil (2001)
"	602	AG x BR	Chr.2: 126	Kim et al. (2003)
"	288	HF x BR	Chr.5: 58	Casas et al. (2003)
"	602	AG x BR	Chr.6: 1	Kim et al. (2003)
"	246	BB x MARC	Chr.6: 50	Casas et al. (2000)
"	288	HF x BR	Chr.21: 6	Casas et al. (2003)
1歳齢体重	555	AG x BR	Chr.1: 66	Kim et al. (2003)
"	555	AG x BR	Chr.5: 79	Kim et al. (2003)
"	246	BB x MARC	Chr.6: 50	Casas et al. (2000)
肥育終了時体重	348	JB	Chr.14: 45	Mizoshita et al. (2004)
"	258	AG x compo.	Chr.17: 52	MacNeil and Grosz (2002)
一日増体量	246	BB x MARC	Chr.4: 30	Casas et al. (2001)
"	348	JB	Chr.14: 32	Mizoshita et al. (2004)
枝肉重量	348	JB	Chr.14: 45	Mizoshita et al. (2004)
"	246	BB x MARC	Chr.4: 30	Casas et al. (2001)
"	538	AG x BR	Chr.23:14	Kim et al. (2003)
肋骨重量	300	HF x BR	Chr.5: 69	Stone et al. (1999)
枝肉歩留	348	JB	Chr.5: 50	Mizoshita et al. (2004)
赤肉歩留	455	BB x MARC, PM x AG	Chr.2: 4( <i>mh</i> )	Casas et al. (1998)
"	300	HF x BR	Chr.2: 35	Stone et al. (1999)
"	300	HF x BR	Chr.5: 55	Stone et al. (1999)
"	288	HF x BR	Chr.9: 70	Casas et al. (2003)
歩留等級	455	BB x MARC, PM x AG	Chr.2: 4( <i>mh</i> )	Casas et al. (1998)
"	620	AG x BR	Chr.26: 26	Casas et al. (2004)
ロース芯面積	455	BB x MARC, PM x AG	Chr.2: 4( <i>mh</i> )	Casas et al. (1998)
"	348	JB	Chr.4: 64	Mizoshita et al. (2004)
"	288	HF x BR	Chr.6: 8	Casas et al. (2003)
背皮下脂肪厚	455	BB x MARC, PM x AG	Chr.2: 4( <i>mh</i> )	Casas et al. (1998)
"	209	PM x AG	Chr.8: 30	Casas et al. (2001)
内臓脂肪量	455	BB x MARC, PM x AG	Chr.2: 4( <i>mh</i> )	Casas et al. (1998)
脂肪交雑	455	BB x MARC, PM x AG	Chr.2: 4( <i>mh</i> )	Casas et al. (1998)
"	620	AG x BR	Chr.2: 55	Casas et al. (2004)
"	258	AG x compo.	Chr.2: 122	MacNeil and Grosz (2002)
"	246	BB x MARC	Chr.3: 65	Casas et al. (2001)
"	288	HF x BR	Chr.5: 52	Casas et al. (2003)
"	288	HF x BR	Chr.23: 32	Casas et al. (2003)
脂肪交雑(BMS)	348	JB	Chr.4: 75	Mizoshita et al. (2004)
肉の柔らかさ	294	HF x BR	Chr.15: 28	Keele et al. (1999)
筋肉倍増(豚尻)	455	BB x MARC, PM x AG	Chr.2: 4( <i>mh</i> )	Casas et al. (1998)

<sup>a</sup> AG；アンガス種，BB；ベルギアン・ブルー，BR；ブラーマン種，HF；ヘレフォード種，JB；黒毛和種，PM；ピエモンテーゼ種，compo.；合成品種，MARC；MARC III

<sup>b</sup> 染色体：cM，*mh*=筋肉倍増遺伝子（ミオスタチン）

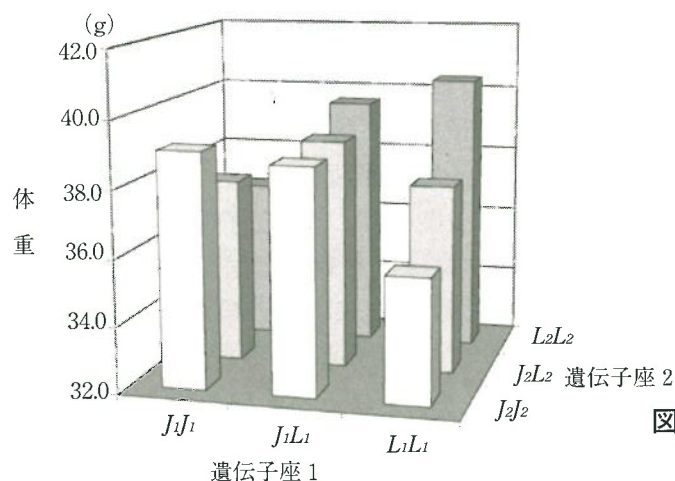


図1 ニワトリの孵化時体重に対するQTL遺伝子座間のエピスタシス効果 (Carlborgら, 2003)

をもたない遺伝子座間のエピスタシスも検出できる複数QTLマッピング (MQEM) 法を開発した。今後、より高度な、しかも汎用性の高い複数QTLマッピング法が開発され、QTL解析も新たな時代を迎えようとしている。

これまで述べてきた雑種第二代 (F<sub>2</sub>) や戻し交雑家系を用いたQTLマッピングは比較的ラフで、マッピングの結果をQTL責任遺伝子の同定やマーカーアシスト選抜 (MAS) に利用するには、その有効性に一定の限界がある。そこで、より精細にQTLの位置を推定することができるQTLファインマッピングが必要になってくる。この点で、数十世代にわたる多数回の組換えを経た後にも残っている染色体上の連鎖不平衡を利用した相関解析が注目される。これは、QTLの近くにあるマーカー座はQTLと連鎖不平衡状態にあるという前提条件の下に、マーカーアリアルと表現型値との間の相関をみることで、QTLの位置を推定する方法である。相関解析には精細なマーカー連鎖地図が必要であるが、後でも述べるホールゲノムシーケンスが家畜でも進められていることから、マイクロサテライトや一塩基多型 (SNP) などのマーカー開発が容易になりつつある。一方、家畜では連鎖不平衡によるハプロタイプブロックがヒトの場合よりはるかに広い範囲にわたっていることが明らかにされつつあり (Farnirら, 2000; Nsengimana, 2004; Odaniら, 2005), ヒトほどマーカーが精細でなくても相関解析が可能であるかもしれない。

### 3. 責任遺伝子座の同定

いまや、量的形質 (医学領域では複雑形質あるいは多因子遺伝性疾患と呼んでいる) を支配している責任遺伝子を同定することがゲノム科学のメインターゲットになってきている。これまで遺伝子同定のためにとられてきたアプローチは、ポジショナルクローニングアプローチと遺伝子発現プロファイリングアプローチとに大別される。前者は染色体の位置情報をベースに

責任遺伝子に迫るのに対して、後者はある形質について異なる属性を示す個体の組織や細胞からRNAを抽出し、cDNAを合成した後PCR増幅やハイブリダイゼーションを行い、発現量に差のある遺伝子が当該形質に関係すると考えるもので、ディファレンシャルディスプレイ法やマイクロアレイ法などが用いられる。

これらのアプローチの中心となるQTLマッピングとマイクロアレイ法にはそれぞれ一長一短がある。QTLマッピングは量的形質に関する塩基配列変異 (quantitative trait nucleotide, QTN) の位置を把握することはできるが、必ずしも当該遺伝子の位置とは一致しない。たとえば、マウスにおけるある遺伝子のエンハンサーエレメントが当該遺伝子から1 Mb離れた別の遺伝子のイントロン内にあったという場合もある。言い換えれば、交配によって分離するのはQTNであって遺伝子ではない場合があるということである。一方、後者では発現量に差がでるのはある組織のある時期に限られていて、しかも発現量に差があったからといって、直ちに責任遺伝子であるとは限らず、責任遺伝子はカスケードの上位にある別の遺伝子である場合もある。すなわち、発現量の差が当該遺伝子の直接効果でなく、2次的あるいは3次的である場合がある。

そこで、両者の優れた点を取り込んだ遺伝子発現量QTLマッピング (expression QTL, eQTL) が今後注目されるであろう (Lanaら, 2003)。これはマイクロアレイなどにより測定される遺伝子発現量を量的形質とみなしてQTLマッピングするもので、発現量に差のある多くの遺伝子のうち塩基配列変異を伴う遺伝子のみを検出することができる。したがって、表現形質の変異の一部に対して一遺伝子座を関係づけることになり、発現量の差を調べる組織や時期が適切であれば、QTL責任遺伝子に迫る最短コースであると考えられる。

### 4. ホールゲノムシーケンス

ポジショナルクローニングアプローチは単一

遺伝子座に支配される遺伝性疾患などの質的形質の責任遺伝子を同定するのに大きく貢献してきた。しかし、より複雑な遺伝をする量的形質、多因子遺伝性疾患などの場合は、ウシの乳量や乳脂量を支配する遺伝子 *DGAT1*, *OPN*, *ABCG2*や *GHR*, ブタの成長を支配する遺伝子 *IGF2*, ブタの筋肉中グリコーゲン量を支配する遺伝子 *PRKAG3*などいくつかの責任遺伝子は同定されたが、それらの責任遺伝子を一つ一つ同定していくことは容易でないことも分かってきた。これらの遺伝子を同定するのに最適な戦略が練られているが、家畜においても進められているホールゲノムシーケンスが今後重要な役割を占めてくると予想される。このことはISAG2004におけるプレナリーセッションでも異口同音に述べられていた。Schook L.はブタにおける遺伝子同定並びに養豚業・医学研究への応用のためにブタホールゲノムシーケンスを推し進める必要性を強調した。また、Burt D.はホールゲノムシーケンスが最も進んでいるニワトリのゲノムシーケンスプロジェクトの概要について述べ、ホールゲノムシーケンスを利用したこれまでの成果、今後期待される成果を紹介した。

ホールゲノムシーケンスは従来のゲノム解析のアプローチを飛躍的に効率化する、あるいは革命的に変化させると考えられている。PCRのためのプライマーのデザイン、マイクロサテライトやSNPなどのマーカーの開発、ポジショナルクランディングの選定、マイクロアレイのためのプローブの探索などを飛躍的に促進する。また、EST (expressed sequence tag) など一部の塩基配列が決定された遺伝子を染色体上に位置づけるフィジカルマッピングなどは、RHマップを必要としなくなり、革命的变化の一つである。

## 5. マーカーアシスト選抜 (MAS)

前述したように経済形質に関するQTL (economic trait loci, ETL) が多数マッピングされ

ている。これらのQTLを選抜に利用するMASが今後の課題となっている。MASを通じて、有用遺伝子を効率的に導入すること (マーカーアシスト遺伝子浸透) によって集団における遺伝的変異の拡大、育種価予測に取り込むこと (marker-assisted BLUP, MABLUP) によって正確度の向上、成育の初期の段階で判定ができるようになることによって選抜強度の強化・世代間隔の短縮などが図られる。

しかし、一言でMASといっても、すべてのQTLに対して同じであるとは限らない。MASには、ETLの情報をどの程度正確に把握されるかによって、3つの段階がある。まず、MAS IはETLが余り近くないマーカーで位置づけられている段階である。これは通常のQTLマッピングの結果を用いる場合である。この段階では、ETLとマーカーとの関連は当該家系にのみ当てはまり、他の家系のMASに利用するには再度解析を仕直す必要がある。つぎに、MAS IIはETLが連鎖不平衡マッピングにより精細に位置づけられた段階であり、マーカーハプロタイプとETLとの関連は家系を越えて集団に共通する。したがって、MASへの利用が一層有効なものとなる。最後のMAS IIIはETLの責任遺伝子が同定された段階であり、究極のMASともいえる。

このようなMASの各段階を正しく認識した上で、それぞれの長所を利用し短所を補って、育種計画の中に取り込むことが重要である。この点については、ISAG2004で多くの発表があったし、ISAG2004後に開催された第10回動物遺伝育種シンポジウムでも活発に論じられたところである (日本動物遺伝育種学会ホームページ<http://bre.soc.i.kyoto-u.ac.jp/~jsabg/>参照)。

## 6. ゲノム解析への夢と期待

かってラットの成長ホルモン遺伝子をマウスに発生工学的に遺伝子導入することによってスーパーマウスができたという論文がNature誌に掲載され、多くの話題をよんだ。それに触発

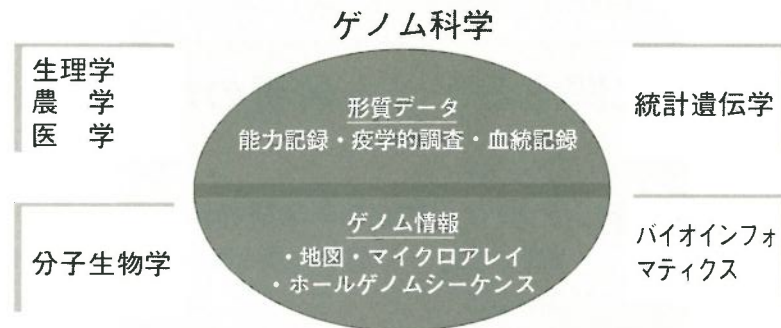


図2 ゲノム科学は複合科学である

されて畜産の分野でも象ウシが創れるものではないかと期待した。しかし、そんな旨い話でもないことがだんだん明らかになってきた。

ところが、今回ISAG2004のプレナリーセッションで夢のような話が、しかも実際にそのような動物を作成することに成功したことが、Georges M.により報告された。同氏はウシの筋肉倍増遺伝子ミオスタチン (*MSTN*) を同定している (Grobet, 1997)。この*MSTN*遺伝子が欠損したウシは筋肉の形成が異常に増加する。しかし、このウシは難産となり、乳量も少ないなどの欠点がある。そこで、マウスをモデル動物として*MSTN*遺伝子の機能を抑制する人工遺伝子をY染色体に導入することで、雄だけに筋肉倍増形質を発現させ、すべての雄の増体量が有意に増加した。これがウシでも成功すれば、雄を肉牛として肥育することにより筋肉を倍増させ、一方、雌は乳牛として利用するという夢のような話になる。

とはいえ、そのような夢を現実のものとするには、まだまだ多くの山を乗り越えていかねばならない。量的形質に関するゲノム解析の成果を家畜生産に活用するステップはいままさに始まろうとしている。家畜についてもホールゲノムシーケンスが進められ、ニワトリに続いて、ごく最近ウシのドラフトシーケンスが公開された。この動きはこれまでのゲノム解析の進展に一層拍車をかけるものと予想される。その際、いろんなディシプリン of 学問分野が境界を取り払って連携・融合していくことが重要のように

思われる。図2にも示したように、ゲノム科学は生物体の形質データとゲノム情報を結びつけて生命現象をゲノムのレベルで解明していく科学であり、生理学に始まり、分子生物学、統計遺伝学、バイオインフォマティクスなどからなる複合科学である。したがって、今後家畜のゲノム科学を応用に結びつけていくためには、これら個別科学の連携が不可欠であると考えられる。

## 文献

- 1) Carlborg O et al. *Genome Res.*, 13(2003) 413-421.
- 2) Carlborg O et al. *Genet. Res.*, 83(2004) 197-209.
- 3) Farnir F et al. *Genome Res.*, 10(2000) 220-227.
- 4) Grobet L et al. *Nature Genet.*, 17(1997) 71-74.
- 5) Lana H et al. *Genetics*, 164(2003) 1607-1614
- 6) Narita A and Sasaki Y *Genet. Sel. Evol.*, 36(2004) 415-433.
- 7) Nsengimana J et al. *Genetics*, 166(2004) 1395-1404.
- 8) Odani M et al. *Anim. Genet.*, in press
- 9) Yi N and Xu S *Genet. Res.*, 79(2002) 185-198.

## ◀総説関連情報▶

## 家畜遺伝性疾患に関するゲノム解析の現状と今後の展望

岡山大学 大学院自然科学研究科  
国 枝 哲 夫

家畜の育種においては、優れた生産形質を選抜するとともに、遺伝性疾患等の生産上の不利な形質を除去することも重要な課題である。和牛においても、これまでに多くの遺伝性疾患が報告され、時として生産上深刻な影響をもたらしている。そこで、本稿では、昨年東京で開催された第29回国際動物学会議におけるウシ遺伝性疾患ワークショップの報告を含めて、家畜の遺伝性疾患に関連したゲノム解析の現状と今後の展望について概説する。

## 1. はじめに

家畜の育種においては、肉質や乳量などの優れた生産形質を選抜することが重要であることは言うまでもないが、一方で生産上の不利な形質を除去することも重要な課題である。すなわち、家畜の生産集団中に存在する遺伝性疾患や繁殖障害などの生産上不利となる形質引き起こす遺伝的要因を、集団中から除去あるいはその遺伝子頻度を減少させることで、生産集団の遺伝的能力を向上させることが可能であると考えられる。特に特定の遺伝子の突然変異に起因する遺伝性疾患は家畜生産上多くの損失を与える可能性があるため、その原因の除去は家畜生産性の向上にとって重要な課題である。これまでも、乳牛の白血球粘着不全症 (BLAD) や、ブタのストレス症候群 (PSS) 等、集団中にかなり広範に疾患の遺伝子が拡散し、多大な被害を与えた家畜の遺伝性疾患が知られているが、近年、我が国の肉用牛においても、数多くの遺伝性疾患の発生が報告され、これらのうちいくつかは和牛の生産上も深刻な影響を与えている。表1に近年我が国で報告されている牛の遺伝性疾患の一覧を示した。また、海外においても、肉牛あるいは乳牛の生産に多大な影響を与えている、あるいは与える可能性のある遺伝性疾患が数多く報告されている。これらの遺伝性

KUNIEDA Tetsuo

〒700-8530 岡山市津島中1-1-1

疾患の多くは常染色体単一劣性のものであり、一般には常染色体劣性の遺伝子がホモとなって発症個体が現れた時には、その集団の中にはかなりの数のキャリア個体が蔓延していると考えられるため、キャリア個体を効率良く同定しない限り、集団よりの原因遺伝子の効率的除去や発生の予防は非常に困難である。従来は、その子供にホモの発症個体が出現した時に初めて、その両親がキャリアであることが判明していたが、近年では、表1にも示すようにいくつかの遺伝性疾患では、その原因となる遺伝子とその遺伝子上の変異が既に同定され、その変異を直接検出することでキャリア個体を同定する遺伝子診断法が可能となっている。

## 2. 第29回国際動物遺伝学会議における動物遺伝性疾患ワークショップ

このような状況の下で、昨年開催された第29回国際動物遺伝学会議 (ISAG2004) では、ウシの遺伝性疾患に関するワークショップが開催された。我が国では最近5年間以内に7以上の遺伝性疾患の原因遺伝子が同定されるなどこの分野の研究では世界をリードしていることから、東京で開催されるISAG2004にて特にこのテーマで筆者をオーガナイザーとしてワークショップが開催されることになった。このワークショップでは、岐阜大学の犬場恵典氏から黒毛和種の尿管形成不全症 (クローディン16欠損



表1 我が国で発生している牛の遺伝性疾患

疾患	品種	原因遺伝子	文献
血液凝固第 XIII 因子欠乏症	黒毛和種	<i>F13</i>	
球状赤血球症 (バンド3欠損症)	黒毛和種	<i>EPB3</i>	1
キサンチン尿症 (モリブデン補酵素欠損症)	黒毛和種	<i>MCSU</i>	2
チェディアック・ヒガシ症候群	黒毛和種	<i>LYST</i>	3, 4
尿細管形成不全症 (クローディン16欠損症)	黒毛和種	<i>CL16 (PCLN1)</i>	5, 6
軟骨異形成性矮小体軀症	褐毛和種	<i>LIMBIN</i>	7
血液凝固第 XI 因子欠乏症	黒毛和種	<i>F11</i>	8
血友病A (血液凝固第 VIII 因子欠乏症)	褐毛和種	<i>F8</i>	
多発性眼球形成異常	黒毛和種	?	
前肢体筋異常症	黒毛和種	?	
てんかん	黒毛和種	?	
腎無形性症	黒毛和種	?	
拡張型心筋症	黒毛和種	?	
白血球粘着不全症 (BLAD)	ホルスタイン	<i>CD18</i>	9
複合脊椎形成不全 (CVM)	ホルスタイン	<i>SLC35A</i>	10
横隔膜筋症	ホルスタイン	<i>HSP70</i>	11

症)について、元畜産技術協会付属動物遺伝研究所の竹田晴子氏から褐毛和種の軟骨異形成性矮小体軀症についての報告があり、デンマークのDr. Bendixenからホルスタインの複合脊椎形成不全症 (CVM) について、フランスのDr. Eggenからはホルスタインの軟骨形成不全症、アメリカのDr. Reecyからはアングスの軟骨形成不全症についての報告があった。このうち特にホルスタインの複合脊椎形成不全症は、非常に能力の優れた種雄牛がキャリアであったため、日本を含めた多くの国で発生が報告され、ホルスタインの生産上大きな問題となっている疾患である。Dr. Bendixenは連鎖解析により本疾患の原因遺伝子をウシの第3染色体上に位置づけ、さらにそこに存在する*SLC35A*という遺伝子に本疾患の原因となる突然変異を同定している。既にこの変異を検出する遺伝子診断法は確立され、我が国でも家畜改良事業団がこの方法を用いて、我が国のホルスタインの中でキャ

リア個体の同定を行っている。このCVMの原因遺伝子の解明は近年の乳牛の遺伝育種学上の大きなトピックの一つであることは間違いない。

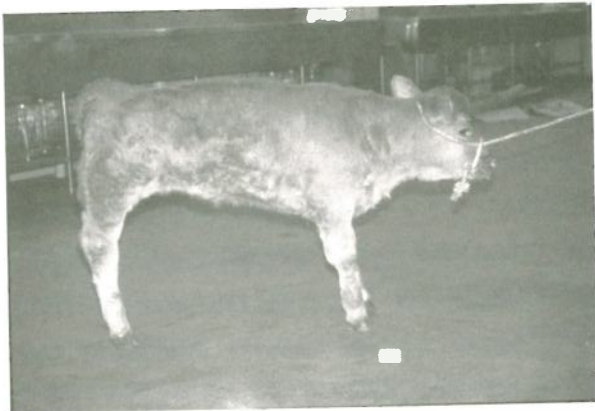
このワークショップ以外にも一般演題の中で、ウシ、ブタ、イヌ等の遺伝性疾患に関する発表も多数みられたことが、昨年の国際動物遺伝学会議の大きな特徴であり、動物遺伝学のなかで遺伝性疾患に関する研究は、肉質や乳量などの正の生産形質に関する研究に比べるとこれまであまり重要視されることがなかったが、本大会では遺伝性疾患の研究が動物遺伝学の中でも重要な一部分になりつつあるとの印象を強く受けた。

前述のように我が国では、過去5年間の間に7以上もの和牛の遺伝性疾患の原因遺伝子が特定されている。これらの疾患についてはいずれも効果的な遺伝子診断法が確立され、その結果、これら疾患の発生頻度は大幅に減少し、また、

種雄牛がこれらの疾患のキャリアである場合にはその情報も公開されるようになってきている。したがってこれらの疾患の原因遺伝子の和牛集団中における遺伝子頻度は今後徐々に減少していくことが期待される。しかし、表1にみられるように、まだ原因遺伝子の明らかとされていない遺伝性疾患も多数知られている。また、海外でも、未だ原因遺伝子の明らかとされていない遺伝性疾患はブラウンスイス種のWeiver病等多数知られている。さらに、今後全く新たな遺伝性疾患が発生する可能性も低くはないと思われる。したがって、家畜の遺伝性疾患に関する研究は今後も、ISAG2004におけるワークショップのような国際的な情報交換の場を設けることも含めて組織的に取り組んでいくことが必要と考えている。

### 3. 家畜遺伝性疾患研究の他分野への貢献

家畜の遺伝性疾患の原因遺伝子を同定するこ



との目的は、もちろん、まず第一に前述のように遺伝子診断法を確立し、キャリア個体を同定することで、疾患の発生を予防し、また集団中の疾患原因遺伝子の頻度を減少させることである。しかし、それだけでなく、遺伝性疾患に関する研究はヒトの医学や基礎生命科学などの他の研究分野にも大きく貢献することが期待される。例えば、褐毛和種の軟骨異形成性矮小体軀症（図1）では、我々はポジショナルクローニングの手法により、全く新規の遺伝子である*LIMBIN*遺伝子を同定し、この遺伝子に生じた2つの突然変異が軟骨細胞の増殖異常を引き起こし、本疾患の特徴的な病態である四肢長骨の短小と関節の形成異常の原因となることを明らかとしている。我々がこれらの成果を公表した後、米国、イギリス等の研究グループより、軟骨形成不全と骨格異常を主な症状とするヒトの遺伝性疾患であるEllis-van Creveld症候群の特定の患者に*LIMBIN*遺伝子の突然変異が存在することが報告された。すなわち、我々がウシの疾患の原因遺伝子として*LIMBIN*遺伝子を同定したことにより、類似した病態を示すヒトの遺伝性疾患の原因遺伝子が解明されたことになる。家畜遺伝性疾患の研究がヒトの医学領域に大きく貢献したいい例であろう。さらに、*LIMBIN*遺伝子は全く新規の遺伝子であり、その機能は現時点では全く不明であるが、これまで軟骨形成に関与することが知られている他の遺伝子と全く類似性がないことから、本遺伝子の軟骨形成における機能を明らかにすること

図1 褐毛和種の軟骨異形成性矮小体軀症発症仔牛の外貌（上）と下腿骨（下）  
四肢は短小であり、発症個体（右）の骨は正常個体（左）に比べて明らかに短く、骨端関節面の形も変形している。  
（九州東海大学 森友靖生氏提供）

で、ほ乳類の軟骨形成に関わる新たな分子メカニズムが解明されること期待されている。我々は既に、この目的のためにLIMBIN遺伝子のノックアウトマウスを作成している。今後このノックアウトマウスの解析により、軟骨形成におけるLIMBIN遺伝子の機能が明らかになるものと期待している。

#### 4. 家畜ゲノム解析と遺伝性疾患

家畜のゲノム解析は主に生産形質を関与する遺伝的要因を解明することを目的として進められているが、一方で、家畜ゲノム解析の成果は遺伝性疾患の原因遺伝子の解明にも大きく貢献することも間違いない。ヒトでは2000年にマウスでは2001年に全ゲノムのドラフト配列が公表されているが、この結果、ヒトの遺伝性疾患の原因遺伝子や生活習慣病に関わる遺伝的要因、あるいはヒト疾患のモデル動物としてのミュータントマウスの遺伝子の解析は飛躍的に進展した。すなわち、それまでは未知の原因遺伝子を同定するためには、連鎖解析により遺伝子の染色体上の位置を決定した後、数千kbにおよぶ領域をクローニングしその塩基配列を決定した上で、その中から遺伝子と思われる配列を探し出し、その中に当該形質の原因となる変異を見つけ出すという多大な労力を要求される作業が必要であった。しかし全ゲノムの配列が決定されたヒトやマウスでは、現在、染色体のほぼ全領域にわたってどのような遺伝子がどのような順番で並んでいるか等の正確な情報がデータベースとして公開され、これらのデータベースを用いることで遺伝子の特定は以前と比べて非常に容易になっている。このようにデータベースの検索により遺伝子を特定することを指して、従来の*in vitro*や*in vivo*の解析に対して、*in silico*の解析という用語ができていくほど、ゲノム配列決定後の遺伝子の解析ではコンピューターを用いたデータベース上での解析によりかなりの情報が得られるようになってきている。ウシにおいても近々全ゲノムのドラフト配列が明

らかにされるとのことであり、その結果、遺伝性疾患の原因遺伝子の同定や、生産形質に関与する遺伝子座 (QTL) 等の同定が飛躍的に加速されることが期待されている。また、これまで家畜ゲノム解析は遺伝子地図の作成や、連鎖マーカーの開発など、ゲノム解析のためのツールの開発にかなりの労力が注がれてきた。しかし全ゲノム配列の決定の後には、これらの労力のかなりの部分が軽減されることになるだろう。その結果、今後の家畜ゲノム解析はゲノムの解析自体より、ゲノム解析の結果を遺伝性疾患や家畜の生産形質の解析に利用するといった応用的側面により重点が置かれるものと考えられる。

#### 5. 家畜遺伝性疾患研究の今後の課題

これまでの遺伝性疾患の研究は、発症個体に重篤な症状の現れる疾患を主な対象としてきた。これらの疾患では発症個体は致死性あるいは生産上ほとんど価値のない個体となるため、その被害は甚大であるが、逆にそのような個体が出現した場合には直ちに遺伝性疾患として認識されることから、同様の交配を避けるなど何らかの予防処置が講じられ、長期にわたって極端に集団中に拡散することはそれほど多くはない。一方、遺伝性疾患でありながら、明確な異常形質を表さないため、遺伝性疾患として認識されにくいような疾患では状況は異なってくる。例えば黒毛和種に発生する血液凝固第XI因子欠乏症がそのいい例である。この疾患では血液凝固第XI因子遺伝子の突然変異により、第XI因子の活性は著しく低下し (図2)、血液凝固時間も延長するが、臨床的には顕著な出血傾向を示さない軽微な血液凝固異常症である。顕著な臨床症状を示さないことから、ホモ個体であっても淘汰されることが少なく、その結果、最近の調査では特定の黒毛和種の集団では遺伝子頻度は非常に高くなっている。しかし、一方でこれまでにホルスタインの第XI因子欠乏症では、軽微であるが、受胎率の低下、性周期の

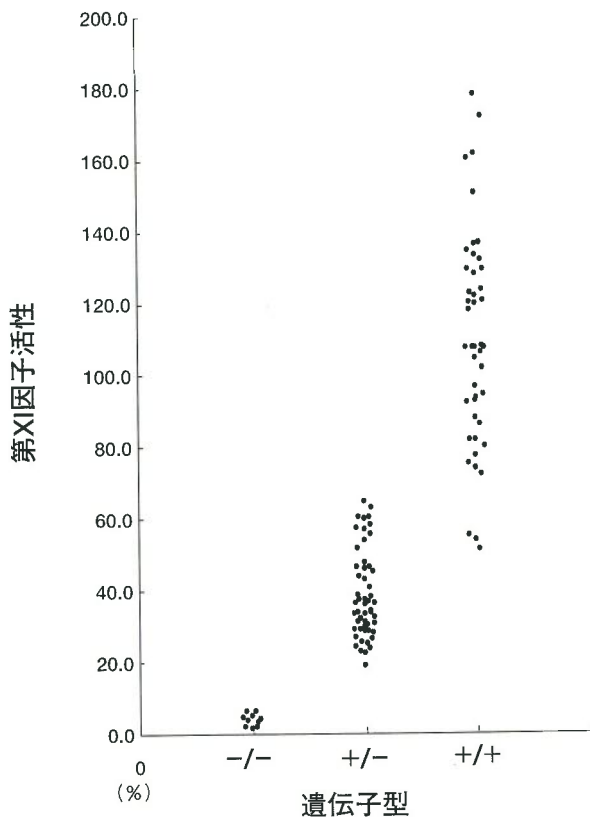


図2 黒毛和種における血液凝固第XI因子活性  
第XI因子欠乏症ホモ個体（-/-）では、正常ホモ  
個体（+/+）に比べて第XI因子活性は著しく低下  
している。一方、キャリア（+/-）は中間的な値  
を示す。（文献8）

遅れ、早期流産の頻度の上昇といった繁殖上の障害が出現することが報告されている。したがって、第XI因子欠乏症発症個体の臨床症状が個体レベルでは軽微なものであったとしても、集団中の遺伝子頻度が高くなれば、我が国の和牛の生産集団全体でみれば無視できない程度の繁殖性への影響を与える可能性があり、その経済的損失は無視できないであろう。第XI因子欠乏症のように軽微な症状しか示さない、あるいは感染症への抵抗性等のように特定の環境的条件下でしか症状を示さない遺伝性疾患はま

だ多数存在するものと考えられる。したがって、今後の家畜遺伝性疾患に関する研究では、従来のような重篤な症状を示す疾患に加えて、このように個々の臨床症状は軽微であるが、集団全体としては無視できない影響を与える疾患についても、取り組んでいくことが必要であると考えている。

以上、本稿では昨年開催され第29回国際動物遺伝学会議における動物遺伝性疾患のワークショップの報告を含めて最近の家畜遺伝性疾患に関するゲノム解析の現状と今後の展望について概括した。

## 文 献

- 1) Inaba, M. et al. (1996) *J Clin Invest* 97, 1804-1817.
- 2) Watanabe, T. et al. (2000) *J Biol Chem* 275, 21789-21792.
- 3) Kunieda, T. et al. (1999) *Mamm Genome* 10, 1146-1149.
- 4) Yamakuchi, H. et al. (2000) *Anim Genet* 3, 13-19.
- 5) Ohba, Y. et al. (2000) *Genomics* 68, 229-236.
- 6) Hirano, T. et al. (2000) *Genome Res* 10, 659-663.
- 7) Takeda, H. et al. (2002) *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 10549-10554.
- 8) Kunieda, M. et al. (2005) *Mamm Genome* 16, 383-389.
- 9) Nagahata, H. et al. (1993) *Can J Vet Res* 57, 255-261.
- 10) Nagahata, H. et al. (2002) *J Vet Med Sci* 64, 1107-1112.
- 11) Sugimoto, M. et al. (2003) *Anim Genet* 34, 191-197.

## ◀総説関連情報▶

## ブタゲノム解析とその応用研究の現状と展望

独立行政法人 農業生物資源研究所  
ゲノム研究グループ 家畜ゲノム研究チーム長  
粟 田 崇

ブタは良質な食肉を生産する家畜であると同時に、ヒトの疾病あるいは生理学的モデルとしても注目されており、ゲノム解析のさらなる推進とその応用研究が期待されている。ここでは全ゲノム塩基配列の解読に関する情勢と日本のゲノム研究の方向性、および応用研究の展望について述べる。特に、今後、ゲノム研究を活用した「高品質で安心かつ安全な」家畜生産が極めて重要であること、そのためには形質データを系統的に収集できるシステムが不可欠であることを強調したい。

## 1. はじめに

ブタをはじめとする家畜のゲノム解析では、生産性に関わる経済形質を支配しているゲノム上の遺伝領域、あるいは遺伝子を特定し、その情報を家畜の育種選抜に利用することを主要な目的として開始された。これは日本に限らず、家畜ゲノム解析を行っているすべての国に共通している。この目的達成のため、ブタゲノム解析では、遺伝マーカーの開発と連鎖地図の作製、実験家系の構築およびマーカーと形質とのQTL解析が行われた。しかしながら、当初の見通しと異なり、一般的なQTL解析では10–20cM程度の染色体領域しか特定することができず、これを大まかに10–20Mbの物理的領域と考えると、なお数百個の遺伝子の存在が予想されるため、すぐには育種には活用できないことがわかった。そして、原因遺伝子の同定やあるいは原因遺伝子存在部位の高精度な特定のためには、ゲノム解析ツールを地道に充実させることの重要性が改めて認識され、これまでに、ヒトゲノム情報を活用した比較遺伝子地図の作製やBACライブラリーの構築等が行われてきた。近年では、ニワトリやウシで行われた全ゲノム解読をブタにおいても推進すべく、米国を

AWATA Takashi

〒305-0901 茨城県つくば市池の台2

中心にコンソーシアムが結成されている。ここでは、ブタ全ゲノム塩基配列解読に関する世界的な情勢と、それを踏まえた日本のブタゲノム解析研究の方向性について、さらに、ゲノム情報を活用した応用研究の現状と将来展望について述べる。

2. ブタゲノム解析研究の世界的情勢  
—全ゲノム塩基配列の解読

ブタは肉畜としての有用性ばかりでなく、体細胞クローン技術やトランスジェニック技術等と組み合わせることで、新しい実験モデル動物の提供や、家畜を利用した有用物質の生産など、新たな産業の創出への寄与が期待されている。海外においても、ヒトの成長、発生、健康あるいは生殖面での生理学的モデルとして位置づけられ、この点から全ゲノム塩基配列解読の意義付けがなされている。

現在、米国を中心に、英国・仏国・韓国・デンマーク・中国などでブタゲノム塩基配列解読コンソーシアム (Swine Genome Sequencing Consortium, 以下SGSC) が形成されており、ゲノム全塩基配列解読への努力が続けられている。SGSCでは、一頭のデュロック種雌由来のBACライブラリーからBACクローンの重なりを最小にするようにゲノム上に整列化させた

minimum tiling path (MTP) を準備しており、これはゲノムの95%以上をカバーする約21,500のBACクローンから形成されている。構想ではこのMTPをクローンごとに3倍量解読し、同じく3倍量のホールゲノムショットガン法による解読と合わせた合計6倍量のハイブリッドアプローチで解読を終了させるとしており、その総必要額をおよそ3,000万ドルと試算している。当初、2006年6月を目処にドラフトを出すことを目標としていたが、予算獲得が必ずしも順調ではなく予定よりも遅れる情勢である。現在、SGSCはMTP 3倍量の塩基配列解読のための資金として、米国農務省へ2006年から2年間約1,000万ドルの研究資金を申請中である。なお、日本は当初SGSCにオブザーバー参加をしていたが、この米国農務省への研究資金申請を機に、コンソーシアムのメンバーとしての正式参加を要請されたところであり、当面は次項に述べる発現解析やゲノム重要領域の塩基配列解読を通じて貢献していくことを考えている。

### 3. 日本のブタゲノム解析・ポストゲノム研究の方向性

日本のブタゲノム解析においては、農業生物資源研究所とSTAFF研究所の共同研究グループ (Animal Genome Research Program, 以下AGP) を中心に、(1) ブタの連鎖地図<sup>1)</sup>やRHマップ (Radiation Hybrid map) の構築<sup>2)</sup>、(2) BACライブラリー<sup>3)</sup>の作製、(3) 抗病性に関連するゲノム重要領域<sup>4)</sup>を中心に約3 Mbpの高精度解読、(4) ブタ各種臓器由来の完全長cDNAライブラリーから得た約160,000のEST情報を統合しウェブ上から利用出来るデータベースシステム (PEDE) の構築<sup>5)</sup> (図1)、等の基盤情報を蓄積してきた。

特にブタのEST情報はここ数年で飛躍的に増大してきたが、完全長cDNAライブラリーの裏付けを伴うEST情報の蓄積は日本のみであり、この点で世界に先行している。全ゲノム塩基配列解読はきわめて重要な取り組みであるが、多くの資金を必要とする研究分野であり、我々も資金の継続的な獲得に努力しているがなかなか容易ではない。そのため、SGSCに対しては、当面AGPの強みである発現遺伝子解析

## Pig EST Data Explorer (PEDE)

- ESTのアセンブルによる独立転写産物の抽出
- BLAST検索によるcDNAクローンのアノテーション
- cSNPの抽出・データベース化
- アセンブリ配列に対する任意配列のBLAST検索ツール

<http://pede.dna.affrc.go.jp/>

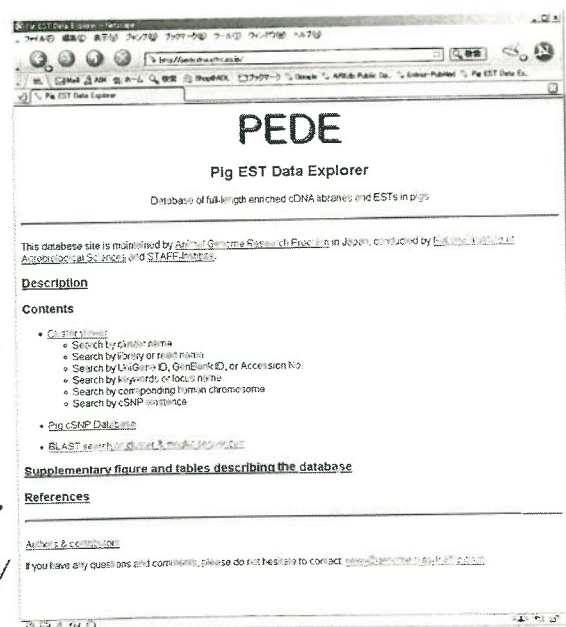


図1 ブタEST・cSNPデータベース (PEDE)

で貢献していくことを考えている。具体的には、ゲノム塩基配列のアノテーションにおいて重要な意義を持つ、完全長cDNA塩基配列の解読を進め、全ゲノム解読の進展に合わせた公開を行う方針である。

また、これまで行ってきたゲノム重要領域の解読についても引き続き推進していくこと

が重要である。ここでいう重要領域とは、難読性が高く、且つ研究推進上の有用性の高い領域を指しており、具体的には高度な繰り返し構造遺伝子ファミリー（抗病性関連遺伝子に多い）や、QTL等の特定形質と関連の高いゲノム領域が該当する。これにより得られた情報は、全ゲノム塩基配列解読に対しても「ランドマーク」として貢献できる。

ポストゲノム研究としては、発現遺伝子解析を中心に有用性の高いゲノム情報を蓄積し、品種・個体識別への応用や遺伝子多型と抗病性や肉質等の生産形質との関連を明らかにしていくことが当面重点化すべきであると考えている（図2）。

#### 4. 生産形質・抗病性に関連する遺伝子の解明と応用

家畜のゲノム解析は、基盤的研究という位置づけではあるが、得られた成果は家畜の育種改良や遺伝病・品種のDNA診断のように直接実用化に結びつきやすいという特徴を持つ<sup>9)</sup>。ここでは、主に畜産での出口を中心とした事項について述べるが、畜産以外にも、臓器移植・再生医療やヒト疾患研究や生理学的研究に役立つモデル動物作出への貢献も期待できよう。なお、遺伝子多型情報を利用したDNA診断の取り組

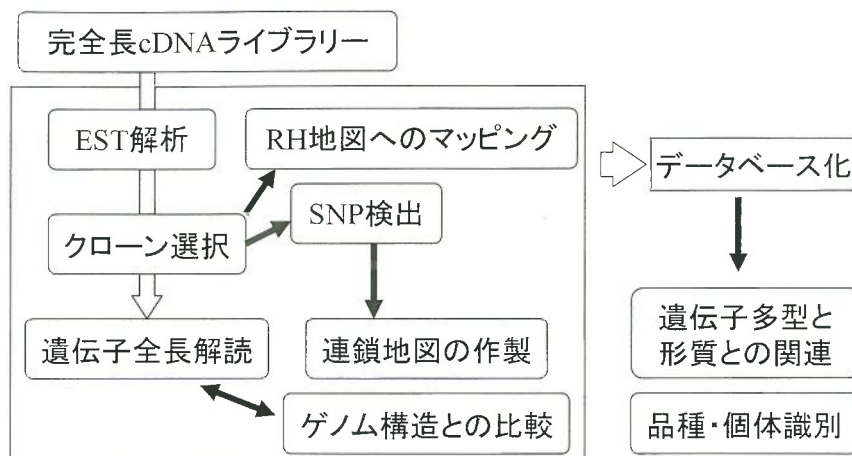


図2 発現遺伝子解析を中心としたゲノム解析

みについては参考文献を参照されたい<sup>7), 8)</sup>。

##### 1) 生産形質に関連する遺伝子の解明と応用

生産形質を対象にしたQTL解析をもとにマーカー育種への利用や原因遺伝子を探索する試みが行われている。これまで多くのQTL解析は、東洋豚と西洋品種のように、遺伝的に離れた品種間交配から造成された実験家系で行われてきた。これらの実験家系から得られたQTL情報は、交雑により東洋豚の好ましい形質（肉質等）を商用の西洋品種に導入する場合を除き、西洋品種内では既に固定されている可能性が高いため、西洋品種の改良へは直接応用できないという議論がある。しかしながら、異品種間交雑家系から得られた脂肪蓄積に関するQTL変異が、西洋品種内でのQTL変異を説明できる例が報告されており<sup>9)</sup>、特に複数家系で検出されているQTL情報については再現性も高く、実際の育種への応用についても非常に有用であると考えている。一例として、表1に我々の行ったQTL解析のうち、体長に影響する椎骨数QTLの例を示す<sup>10)</sup>。これまで多くの実験家系の解析から、第1染色体と第7染色体の2つの領域に効果の非常に大きいQTLが検出され、これは増体への強い選抜の結果と思われる。詳細は論文を見ていただくとして、ここで注目していただきたいのは、調べた限りの西洋品種では、

表1 椎骨数QTLの検出

実験家系	親世代	QTLのアリル	
		第1染色体	第7染色体
M x G	♂ゲッチングミニ豚(G)	q/Q	q/q
	♀梅山豚(M)	q/q	q/q
M x L	♂ランドレース(L)	Q/Q	Q/Q
	♀梅山豚(M)	q/q	q/q
L x Wb	♀ランドレース(L)	Q/Q	<span style="border: 1px solid black;">Q/q</span>
	♂日本猪(Wb)	q/q	q/q
J x W	♂ラージホワイト(L)	Q/Q	<span style="border: 1px solid black;">Q/q</span>
	♀金華豚(M)	q/q	q/q
B x C	♀パークシャー(B)	Q/Q	Q/Q
	♂クラウンミニ豚(C)	q/q	q/q
M x W	♂ラージホワイト(L)	Q/Q	Q/Q
	♀梅山豚(M)	q/q	q/q
J x D	♂デュロック(D)	Q/Q	Q/Q
	♀金華豚(J)	q/q	q/q
W x Wb	♀ラージホワイト(W)	Q/Q	<span style="border: 1px solid black;">Q/q</span>
	♂日本猪(Wb)	q/q	q/q

※ミニブタは西洋品種と東洋豚との合成品種

第1染色体上のQTLは椎骨数を増加させるQTL(表ではQタイプ)に固定されているのに対して、第7染色体上のQTLは西洋品種内においても未だ固定されていないことである。従って、これら異品種間交雑家系の解析結果からの情報をもとに、西洋品種内においても第7染色体上のQTLを選抜することで、増体を目的としたさらなる育種も可能であると考えられる。

このほか、西洋品種の生産形質データと、QTL候補遺伝子のアリルタイプとの相関解析も行われている<sup>11)</sup>。しかしながら、候補遺伝子が本当に原因遺伝子であるかについては、候補遺伝子の変異と機能との関係をきちんと説明できなくてはならない。この点は単一遺伝子の突然変異で説明できる質的形質と異なり、他殖性で非近交である家畜のQTL遺伝子を解明する上で大きな困難を伴う点である。現在のところ、QTL責任遺伝子の単離は、インプリンティングという特殊な遺伝様式を示す例<sup>12)</sup>や極端な異常を示す突然変異によるケース<sup>13)</sup>に限られている。我々はここで紹介した椎骨数QTLの単離に向けて鋭意努力しているところであり、近い

将来改めてご紹介できる成果が得られるものと期待している。

## 2) 抗病性の増進、診断技術の開発をめざしたゲノム研究

近年、国内の畜産関連産業は、BSEの発生やトリインフルエンザ等により、食の安心と安全を脅かす極めて深刻な事態となっている。また、生産現場においては日和見感染等による生産性の損失は総生産コストの1割以上を占めると言われている。これに対して、治療に用いられる抗生物質等の薬剤は使用を誤ると食の安全性を脅かす結果につながり得ること、さらにEUでは、2008年までに飼料添加剤としての抗生物質の使用中止が合意されており、今後この傾向がさらに拡大する可能性があることから、ゲノム研究の成果を活用した抗病性育種に基づく「高品質で安心かつ安全な」家畜生産に貢献しうる先端技術開発の必要性が世界的に認識されつつある。

EUでは、すでに欧州委員会により2004年10月よりINRA(仏国)、Roslin(英国)等、10カ



国、13の主要研究機関が参画する欧州家畜抗病性ゲノムネットワーク (EADGENE) が設立された<sup>14)</sup>。今後、5年後の2009年までに1,152万ユーロを支出して家畜の抗病性にかかるゲノム解析プロジェクトを推進するとしている。これに関連して、ごく最近、英国BBSRC (Biotechnology and Biological Science Research Council) も、家畜ゲノム研究の重要性、特に抗病性の観点からの研究について、第一の優先順位で推進すべきという勧告を出している<sup>15)</sup>。国内においても抗病性関連遺伝子の構造・機能解析研究と、系統造成豚を活用した免疫能と免疫関連遺伝子のアレルタイプとの相関を解明する研究が農水省委託プロジェクト等で進行中であるが、今後この方面の研究をさらに一層重点・強化していく必要がある。

## 5. おわりに

近年、ブタにおいてもゲノム研究のための基盤が充実し、これらを活用することで目的遺伝子の構造、機能解析の飛躍的な進展が見込まれる。しかし、生産形質や抗病性に関連する責任遺伝子の単離のためには形質のデータが欠かせない。ところが、特に日本では形質と候補遺伝子との相関解析を行うにしても、DNAと形質データとを併せ持つ家畜サンプルを系統立てて収集することは極めて難しいのが現状である。今後、ゲノム研究の基盤を充実させるばかりでなく、形質データを効率的に利用できるための基盤構築を行うことが生産性や抗病性に関わる遺伝子を単離するための大きな課題である。

## 文 献

- 1) Mikawa, S. et al. (1999), *Anim. Genet.* 30 (6): 407-17.
- 2) Hamasima, N. et al. (2003), *Anim. Genet.* 34(3): 216-20.
- 3) Suzuki K. et al. (2000), *Anim. Genet.* 31 (1): 8-12.
- 4) Shinkai, H. et al. (2005), *Gene.* 349:55-66.
- 5) Uenishi, H. et al. (2004), *Nucleic Acids Res.* 32(Database issue): D484-8.
- 6) van der Steen, H. et al. (2005), *J. Anim. Sci.* 83: E1-8.
- 7) 奥村直彦ら, (2000), 日本養豚学会誌, 37巻1号, 31-35.
- 8) 三橋忠由, (2005), ブレインテクノニュース 108号, 18-23.
- 9) Nagamine, Y. et al. (2003), *Genetics*, 164 (2): 629-35.
- 10) Mikawa, S. et al. (2005), *J. Anim. Sci.* 83 (10): 2247-54.
- 11) Ciobanu, D. et al. (2004), *J. Anim. Sci.* 82 (10): 2829-39.
- 12) Van Laere, A. et al. (2003), *Nature.* 425 (6960): 832-6.
- 13) Milan, D. et al. (2000), *Science.* 288(5469): 1248-51.
- 14) <http://www.eadgene.org/>
- 15) [http://www.bbsrc.ac.uk/about/pub/reports/fagr\\_11\\_10\\_05.pdf](http://www.bbsrc.ac.uk/about/pub/reports/fagr_11_10_05.pdf)

## ◀国内情報▶

## 卵から雄のみがふ化する特別な蚕品種の育成

財団法人 大日本蚕糸会 蚕業技術研究所

大 沼 昭 夫 ・ 井 上 元

カイコの雄のみを飼育するために特別な蚕品種を育成したと平成17年春に記者発表した。プラチナボーイと命名されたこの蚕品種は、高品質の繭糸を生み出す雄のカイコのみを飼育したいという長年の夢を実現するものであり、2種類の劣性致死遺伝子と性染色体とガンマー線照射技術を組み合わせて作出された。既に、'絹を未来に'プラチナボーイ研究会も発足し実用化をめざして連携方策が検討されているので、その繭糸を使った特徴ある衣料が早い機会に社会にお目見えするものと期待される。

## 1. はじめに

雌雄が混在するカイコにおいて、雄は絹の生産効率が雌よりも20%ほど高く、糸が細くて長く糸質に優れている上に幼虫も強健であることから、雄のみを飼育するのが昔からの夢であった。

この夢に最初に挑戦したのは田島弥太郎博士と原田忠次博士であり、1949年頃のことであった。彼らは、卵色に関わる遺伝子が座乗している染色体をX線照射によって切断し、その小断片の染色体を性染色体の一つW染色体に連結することを目標としていた。そして見事に、X線照射後の後代の大量飼育と解析から、雌は黒卵で雄は白卵となる限性黒卵系統を確立した。この成果に刺激されて、ソ連（現在のロシア）のアスタロフ博士らも同じ手法で雌雄識別可能な卵系統を作出した。この蚕系統では卵から雄も雌もふ化することから、光電管による黒卵と白卵を分離する装置の試作まで研究は進んだが実用化には至らなかった。雄の白卵が光に弱くふ化が悪いとされている<sup>1)</sup>。

その後、1968年に著者の一人大沼昭夫はソ連のスツルニコフ博士とほぼ同時期に、ショウジョウバエで知られているBalanced lethal（平衡

OHNUMA Akio, INOUE Hajime  
〒300-0324 茨城県稲敷郡阿見町飯倉1053

致死)現象に着目し、雄蚕品種作出の新しいアイデアを提唱した。そのアイデアは、カイコの性染色体のW染色体とZ染色体、2種類の劣性致死遺伝子およびガンマー線照射技術の三者を組み合わせ、雌は卵の中で斃死し雄はふ化できる特殊な卵を作出する理論であった。そして、スツルニコフ博士はタシケントの蚕業研究所の総力をあげて取り組み1969年に、大沼は第5染色体の平衡致死を研究したりしながら1988年に、Z染色体の平衡致死系統の作出に成功している<sup>2, 3)</sup>。長年の改良を経て、大沼は立派な繭を作る実用的な雄蚕品種「プラチナボーイ」の育成を成し遂げ、平成17年（2005年）3月15日に記者発表し同年4月3日に日本蚕糸学会で研究概要を報告した<sup>4)</sup>。

育成にいたる一連の技術開発は、①伴性の平衡致死法の理論の考案、②平衡致死系統の作出、③平衡致死系統の繭計量形質の向上と平衡致死の再構築、④平衡致死系統の雄を普通の雌に交配することによる実用的な雄蚕品種の開発、の過程を経ている。以下、これらの過程に従って概要を紹介する。

## 2. 伴性の平衡致死法の理論の考案

カイコの性染色体にはZ染色体とW染色体とがあり、ZZは雄（♂）となりWZは雌（♀）と

なる。もし、このZ染色体上に劣性の致死遺伝子2種類をバランスよく近接して配置する特殊な雄を作り出せれば、また、W染色体に致死遺伝子に対応する正常遺伝子が座乗しているZ染色体断片を連結した特殊な雌ができれば、図1に示したような平衡致死系統を作出できる。そして、この雄と雌を交配することによって平衡致死系統の維持継代が可能である。

つぎに、この平衡致死系統の特殊な雄を普通の雌に交配すれば、図2に示したように、次代の卵の胚子のW染色体には致死遺伝子を抑制する正常遺伝子がないので、WZ(♀)は全て卵中で斃死し、ZZ(♂)は正常遺伝子が致死遺伝子を抑制するためにふ化できることになる。すなわち、雌はすべて斃死し雄はすべてふ化する。

### 3. 平衡致死系統の作出

図1に示した理論に基づいて平衡致死系統の作出に取り組んだ。まず、自ら作出した限性黒

卵系統<sup>5)</sup>の黒卵からふ化した雌が蛹になったときに4,000レントゲンのガンマー線を照射し、その羽化した雌蛾を白卵からふ化した雄蛾と交配した。その産下された卵から出現する突然変異型の幼虫を調査し、目的のカイコの発見に努めた。

突然変異の幼虫は白卵からふ化するように企画されているので、黒卵は不要であるから、ピンセットで黒卵を除去しなければならなかった。この作業は毎晩深夜まで続いた。

幸い、約4万頭のカイコから劣性の致死遺伝子 $\ell 1$ または $\ell 2$ を有するカイコが発見できた。そして、両者を用いて図1の特殊な雄を作出することができた。

一方、正常遺伝子部分が座乗するZ染色体の小断片が連結した雌も約12万頭のカイコから発見できた。しかし、この雌は産卵性が悪かった。原因はW染色体に連結している(転座という)Z染色体断片が大きすぎるためと判明したので、小さく転座したカイコを探索し発見できた。特殊な雄と雌の作出によって理論通りに平衡致

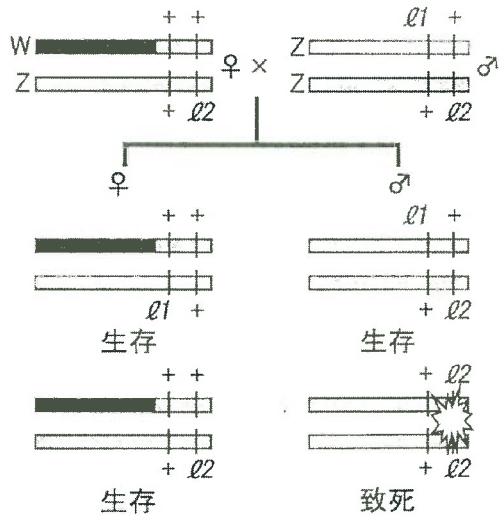


図1 伴性の平衡致死法の理論

雄のZ染色体には2種類の劣性致死遺伝子 $\ell 1$ と $\ell 2$ がバランスよく座乗している。雌の性染色体WにはZ染色体の小断片が連結している。この小断片には致死遺伝子に対応する正常遺伝子が座乗している。これら雄と雌を交配すると平衡致死系統を維持できる。

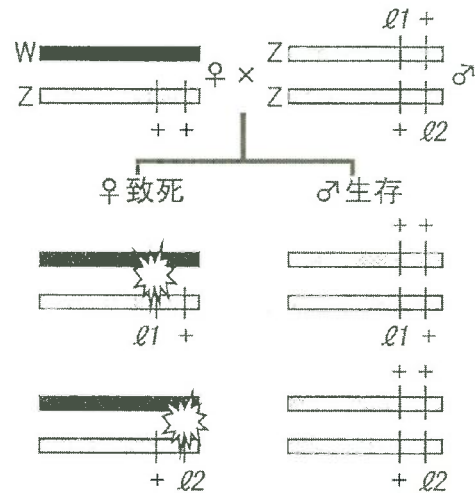


図2 雄のみがふ化する原理

平衡致死系統の雄を普通の雌に交配すると、次代の卵では、雄は正常遺伝子で劣性致死遺伝子が抑制されるのでふ化できるが、雌は正常遺伝子を持たないために斃死する。

死系統を確立し維持することが可能になった。

#### 4. 平衡致死系統の繭計量形質の向上と平衡致死の再構築

このようにして平衡致死系統は作出できたが、作出の素材が限性黒卵系統といって遺伝資源のカイコであり、極めて貧弱な繭しか作らない。そこで、この平衡致死系統の改良を図った。

日本では、経済的に使用されている実用蚕品種は、原種の日本種と中国種の交配による日中交雑種である。そこで、平衡致死系統の雄と雌を中国種として利用するために、蚕業技術研究所が保有している優れた中国種の原種であるW7と交雑し改良することとした。

合計で7回戻し交雑を繰り返しW7が有する優れた形質を導入したところ、7年以上を要したが、選抜されたカイコの繭の計量形質はW7に対して指数的に100近くまで向上した。一方、戻し交雑の過程で平衡致死の遺伝子構成が崩れたので、改良した平衡致死系統内で交雑を繰り返し図1に示される元の遺伝子構成となるように再構築を行った。

#### 5. 平衡致死系統の雄を普通の雌に交配することによる実用的な雄蚕品種の開発

平衡致死系統の繭の計量形質が向上したので、この特殊な雄（BLと表現する）を蚕業技術研究所が保有する優れた日本種の原種と交配してみた。用いた日本種の原種はF7とNtであり、この交雑原種（F7・Nt）の雌と特殊な雄（BL）を交配した。すなわち、3種類の原種の組み合わせであるので3元交雑となる。

図3に見られるように、3元交雑（F7・Nt×BL）の卵からは図2の原理に従って雄のみがふ化し雌はふ化できなかった。このふ化したカイコを所内で飼育し対照のカイコ（F7・Nt×W7）と比較してみると、ほぼ同様な優れた飼育成績が得られた。また、このカイコは桑のみ

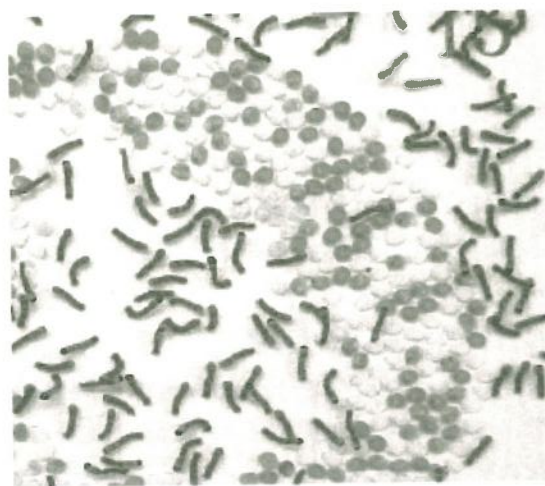


図3 平衡致死系統の雄を普通の雌に交配した卵からふ化した雄

白い卵は雄がふ化したあとの抜け殻。全体が黒い卵は致死遺伝子  $l2$  によって斃死した雌、部分的に黒い卵は致死遺伝子  $l1$  によって斃死した雌を示す。



図4 稚蚕共同飼育所での人工飼料の給与



図5 人工飼料をよく摂食し成長するプラチナボーイ

表1 農家に委託した飼育試験の成績

供試蚕品種	繭生産量 (kg)	繭の平均重量 (g)	絹の割合 (%)	繭糸の長さ (m)	糸の太さ (デニール)
F7・Nt × BL	44.6	1.96	26.5	1,464	2.66
春嶺 × 鐘月	47.0	2.11	23.5	1,365	2.72

飼育数は各品種とも27,000頭 飼育時期は平成16年春蚕期  
雌蛹は雄蛹よりも大きく重いので、雌雄混合の春嶺×鐘月は雄のみのプラチナボーイ (F7・Nt×BL) よりも平均繭重量は重くなり全体の生産量も重くなる。  
一方、雄のみのプラチナボーイは絹の割合が高く糸も長くて細く、雄の特長が出ている。

ならず人工飼料も良好に摂食することがわかった (図4, 5)。

そこで、実際に茨城県の農家に委託して桑での飼育試験を実施してみた。稚蚕共同飼育所で10日間飼育された幼虫が農家に配送された。平成16年の春蚕期は温暖だったり冷涼だったりと変化が大きく5齢幼虫期間も9日間であったが、表1に示されるように農家で飼育される春蚕期用の品種である春嶺×鐘月に勝る成績が得られた。

引き続き夏蚕期も同じ農家で飼育していただいた。この夏は猛暑で厳しい条件であったので、カイコの5齢期間が短く7日目には繭を作り始めたため繭は軽くなったが、対照品種の錦秋×鐘和に比べても遜色のない成績であった。

平衡致死系統のカイコは突然変異遺伝子を有するので、その特殊な雄を交配した場合に丈夫さがどうなるか気にかかるころであったが、強健性が示され安堵した。

## 6. プラチナボーイの今後の展望

私たちは農家での飼育試験で実用に供しうると判断し、この雄蚕品種を「プラチナボーイ」と名付け蚕糸絹業に提供することとした。夏蚕

期に得られた繭から糸を調製し染織作家に白生地を織っていただいた。糸の性質を生かすように撚糸条件や織り方を考えるなど予備試験をされてから綾織りで制作された白生地を、(財)大日本蚕糸会・蚕糸科学研究所のニューシルク開発委員会にて紹介したところ、委員である絹織物の専門家から感触が素晴らしいとの評価をいただいた。

現在、「絹を未来に」プラチナボーイ研究会が発足し、養蚕、製糸、織元、和服制作の関係者が集い、実用化に向けて連携方策を検討している。大変長い年月を経て育成された研究者の汗の結晶が社会に出て行くのも間近い。

## 文 献

- 1) 田島弥太郎 (1991) 生物改造, 161p, 裳華房.
- 2) Strunnikov, V.A. (1969) Dokl. Acad. Nauk SSSR, 188, 1155-1158.
- 3) 大沼昭夫 (1988) 蚕研彙報, 36, 17-25.
- 4) 大沼昭夫 (2005) 日蚕雑投稿 (受理)
- 5) 大沼昭夫・田島弥太郎 (1983) 日蚕雑, 52, 133-140.

## ◀国内情報▶

## ミトコンドリアDNA変異と アポトーシスの老化機構への関与

東京大学 大学院農学生命科学研究科 応用生命化学専攻  
染 谷 慎 一 ・ 田 之 倉 優

高齢化社会白書によると、現在日本国民の5人に1人は65歳以上の高齢者であり、2040年には国民の3人に1人が高齢者となることが予測されている<sup>1)</sup>。またこの高齢者人口の増加に伴い、老年性難聴、老人性痴呆、癌など様々な加齢性疾患患者人口の大幅な増加が予測されている。この老化の機構としてはミトコンドリアDNA (mtDNA) の変異の蓄積により老化が進行する可能性が報告されている<sup>2)</sup>。しかしながら、このmtDNA変異の老化機構への関与についてはいまだ不明な点が多い。そこで今回、加齢によりmtDNAの変異が蓄積する遺伝子改変マウスを作製し、mtDNA変異の蓄積の老化機構への関与、そしてアポトーシス（プログラム細胞死）の老化機構への関与について検討をおこなったので報告する。

### 1. mtDNA変異の蓄積により早老症状を示す遺伝子改変マウスの作製

まず我々は、DNAポリメラーゼガンマ(*Polg*)のmtDNA修復機能を保有する領域に特定の点変異を導入することにより、mtDNAの修復機能が失われ、mtDNAの変異が加齢に伴い加速的に蓄積する遺伝子改変マウス(*PolgA<sup>D257A/D257A</sup>*)を作製した<sup>3)</sup>。そこでmtDNA変異の蓄積の老化機構への関与を明らかにするために、9月齢(中年齢)の野生型(WT)マウスと変異型(D257A)マウスを用いて、老化に特徴的とされる様々な老化の表現型解析を行った。その結果D257Aでは、mtDNAの変異が加齢に伴い加速的に蓄積することで、脱毛、白髪化、脊柱後わん症、胸腺退縮、睪丸萎縮による精祖細胞の空乏、骨量の低下、腸陰窩、赤血球の循環障害、体重低下、そして筋肉減少症(腓腹筋、大腿四頭筋)など老化に特異的な症状が示された(図1A-B)。また、寿命測定ではWTの最高寿命は850日以上だったが、D257Aの最高寿命は460日であり、D257Aマウスでは加齢が加速的に進行することが示された(図1C)。以上の結果により、mtDNA変異の蓄積が老化機構へ

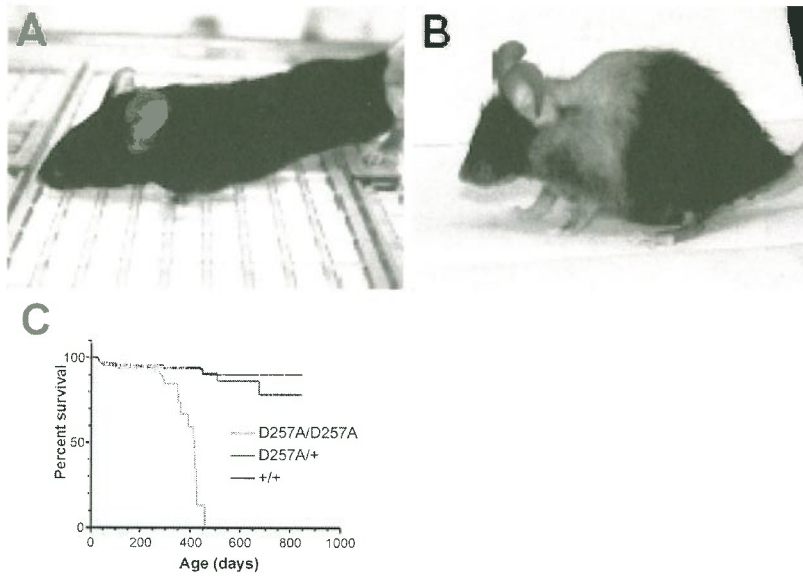
関与し、この遺伝子改変マウスが早老症を示すことが明らかになった。

### 2. mtDNA変異の蓄積による老年性難聴の発症

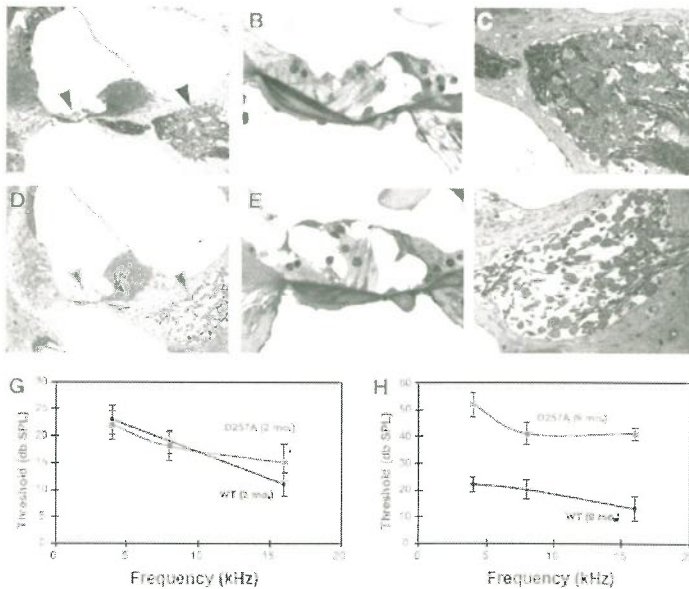
老年性難聴とは両側耳にほぼ対称に生じる、老化に伴う進行的な感音性難聴である<sup>4)</sup>。老化による聴力低下をもたらす因子としては動脈硬化、高血圧、職場騒音、薬剤、環境化学物質、高脂肪食、ストレス、遺伝子などが考えられている<sup>5)</sup>。しかしながら、老年性難聴の分子レベルでの発症機構は不明であり、老化による聴力低下に対する有効な予防法や治療法はない。そこでmtDNA変異の蓄積の、老年性難聴発症機構への関与を明らかにするために、若年齢(2月齢)のWT群とD257A群、9月齢のWT群とD257A群を用いて聴力測定等をおこなったところ、若年齢WT、9月齢WT、若年齢D257Aでは正常の聴力が示されたが、9月齢D257Aでは加齢による中等度の難聴が出現することが示された(図2G-H)。また組織学的には若年齢D257Aと9月齢WTの病的組織変化は軽度であったが、9月齢D257Aでは基底回転のラセン神経節細胞の著明な消失、有毛細胞の軽度の消失が見られ、ABR(聴性脳幹反応)の結果

SOMEYA Shin-ichi, TANOKURA Masaru

〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1



**図1 mtDNA変異の蓄積により早老性を示すD257Aマウス**  
 (A) 野生型 (WT) マウス。(B) 脱毛, 白髪化, 脊柱後わん症, 胸腺退縮, 睪丸萎縮による精祖細胞の空乏, 骨量の低下, 腸陰窩, 赤血球の循環障害, 体重低下, そして筋肉減少症 (腓腹筋, 大腿四頭筋) など老化に特異的な症状を示す変異型 (D257A) マウス。(C) D257A (D257A/D257A) マウスでは加齢が加速的に進行することが示された。



**図2 mtDNA変異の蓄積による難聴出現および蝸牛障害**  
 (A, B, C) 9月齢 (WT) の病的組織変化は軽度であったが, (D, E, F) 9月齢変異型 (D257A) では基底回転の有毛細胞の軽度の消失, ラセン神経節細胞の著明な消失が示され, ミトコンドリアDNA変異の蓄積により蝸牛障害が生じることが示された。(G) 2月齢WT, 9月齢WT, 2月齢D257Aでは正常の聴力が示されたが, (H) 9月齢D257Aでは加齢による中等度の難聴が出現することが示された。

を支持する所見を示した (図 2 A-F)。以上の結果により, 加齢に伴う mtDNA の変異の蓄積が, 老年性難聴発症の原因となりえることが明らかとなった。

### 3. 活性酸素種の老化機構への関与

ROS (活性酸素種) は mtDNA 変異, ミトコンドリア機能障害, 細胞障害を引き起こすことで老化機構に関与すると考えられている<sup>1, 6)</sup>。そこで, この ROS の老化機構への関与を調べるために, 若年齢 (3 月齢) の WT 群と D257A 群, 9 月齢の WT 群と D257A 群の心臓および肝臓組織のミトコンドリアを用い, 有害な ROS として知られる過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) 生産量を調べたところ, 4 群間における  $H_2O_2$  量に有意な差は示されなかった (図 3 A)。生体に酸化ストレスが加わると, タンパク質, 脂質, 核酸が酸化損傷を受けることが知られている<sup>7)</sup>。そこで同じ組織のミトコンドリアを用い, 酸化ストレスマーカーとして知られるタンパク質の酸化生産量 (酸化タンパク質分子内のカルボニル基レベル) を調べたところ, 4 群間における酸化タンパク質量にも有意な差は示されなかった (図 3 B)。次に肝臓および骨格筋肉組織のミトコンドリアを用い, 過酸化脂質マーカーであ

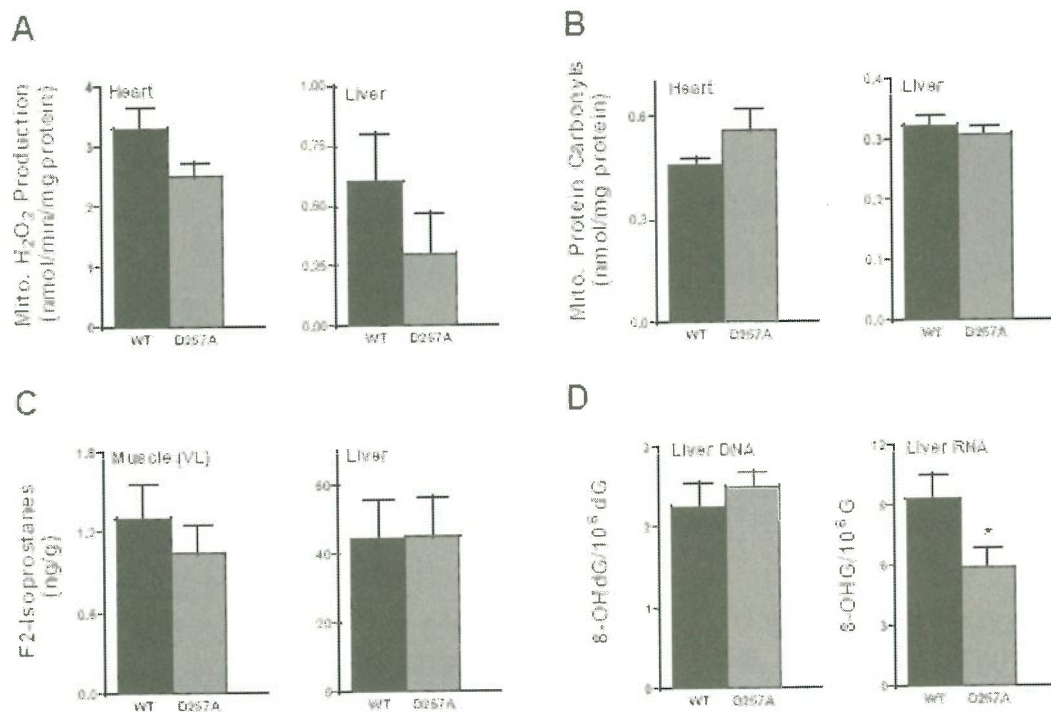


図3 mtDNA変異の蓄積と酸化ストレスマーカー

(A) 心臓と肝臓組織において、ROSとして知られる過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) 生産量に有意な差は示されなかった。(B) 心臓と肝臓組織において、タンパク質の酸化マーカー (酸化タンパク質分子内のカルボニル基) 生産量に有意な差は示されなかった。(C) 骨格筋と肝臓組織において、過酸化脂質マーカーであるF2-isoprostane生産量に有意な差は示されなかった。(D) 肝臓のDNAおよびRNAにおいて、核酸の酸化損傷マーカー (8-OHdG) 生産量に有意な差は示されなかった。

るF2-isoprostane生産量を調べたところ、4群間におけるF2-isoprostane量に有意な差は示されなかった (図3C)。さらにRNAおよびDNAの酸化損傷マーカーである8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) を用いて、肝臓のRNAおよびDNAにおけるこの核酸損傷マーカー生産量を調べたところ、やはり4群間における8-OHdG量に有意な差は示されなかった (図3D)。以上の結果から、加齢によるmtDNAの変異の蓄積が、ROS生産量の増加および酸化ストレスの増加に関与しないことが示され、ROSおよび酸化ストレスの関与なしに老化が進行しえることが示された。

#### 4. アポトーシスの老化機構への関与

mtDNAの変異は、ミトコンドリア機能低下を引き起こし、アポトーシスを誘導すると考えられている<sup>8)</sup>。そこで、ミトコンドリアのアポトーシス経路においてアポトーシスマーカーとして知られる、活性型カスパーゼ-3の老化機構への関与を調べるために、標準的な老化進行を示すWTマウスの若年群 (5月齢) と老年群 (30月齢) の肝臓、骨格筋、睪丸組織のミトコンドリアを用いて、活性型カスパーゼ-3生産量を調べたところ、老年群においてカスパーゼ-3量が有意に増加することが示された (図4A)。次に若年齢 (3月) のWT群とD257A群の十二指腸、肝臓、睪丸、胸腺組織を用いて活性型カスパーゼ-3生産量を調べたところ、D257Aにおいてカスパーゼ-3量が有意に増加



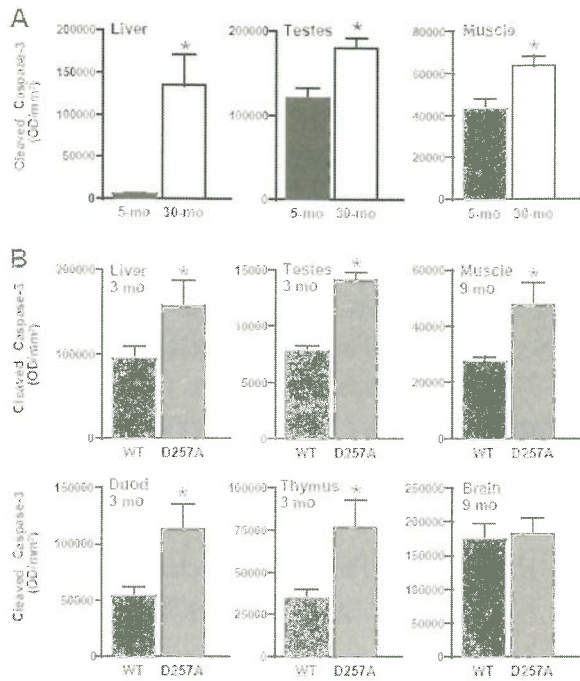


図4 mtDNA変異の蓄積と老化のカスパーゼ-3の活性化

(A) WTマウスの若年群と老年群の活性型カスパーゼ-3生産量を調べたところ、老年群においてカスパーゼ-3量が増加していることが示された。(B) 3月齢のWT群とD257A群の各組織における活性型カスパーゼ-3生産量を調べたところ、5組織においてD257Aのカスパーゼ-3量が有意に増加していることが示された。

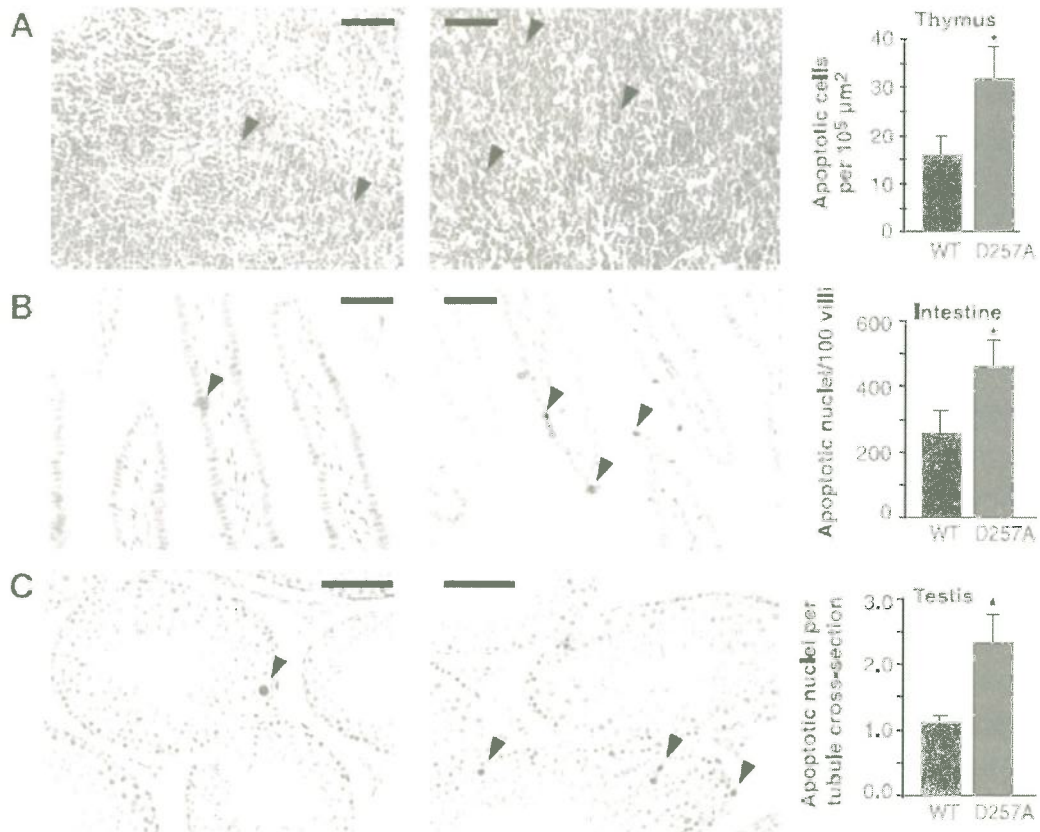


図5 TUNEL法によるアポトーシス測定

(A, B, C) 3月齢のWT群とD257A群の辜丸、胸腺、腸組織を用いてTUNEL法によりアポトーシス陽性細胞を調べたところ、D257AにおいてTUNEL陽性細胞数が有意に増加していることが示された。

していることが示された。さらに、9月齢のWT群とD257A群の骨格筋と脳組織のミトコンドリアを用いて活性型カスパーゼ-3生産量を調べたところ、D257Aにおいてカスパーゼ-3量が有意に増加していることが示された(図4B)。以上の結果から標準的な老化進行機構においてmtDNAの変異の蓄積が、カスパーゼ-3依存性アポトーシス経路の活性化に関与することが示され、若年齢D257AマウスにおいてもmtDNAの変異の蓄積が、カスパーゼ-3依存性アポトーシス経路の活性化に関与していることが示された。アポトーシスはプログラム化された細胞死であり、その特徴として核DNAのフラグメント化が生じることが知られている<sup>9)</sup>。そこでアポトーシスの老化進行機構への関与を調べるために、若年齢(3月)のWT群とD5257A群の睾丸、胸腺、腸組織を用いてTUNEL法によりアポトーシス陽性細胞を調べたところ、D257AにおいてTUNEL陽性細胞数が有意に増加していることが示された。以上の結果を総合し検討した結果、mtDNAの変異の蓄積がアポトーシスの活性化に関与し、このアポトーシスにより生じる細胞消失が、老化進行機構へも関与していることが示された。

## 5. まとめ

今回、我々は早老症を示す遺伝子改変マウスの作製に成功し、mtDNA変異の蓄積により老化が加速的に進行することを明らかにした。また、このmtDNA変異の蓄積が老年性難聴の原因となり得ることも明らかとなった。さらにアポトーシスとROS・酸化ストレスの老化機構への関与について検討した結果、ROSおよび酸化ストレスの関与なしに老化が進行しえることが示され、一方アポトーシスは加齢と共に増加することが示された。以上の結果を総合的に検討した結果、アポトーシスが老化進行機構に

中心的な役割を果たしていることが示唆された。現在、加齢に伴う老年性難聴などの加齢性疾患に対する有効な予防法や治療法はない。今回の我々の発見が老化機構の解明、老化進行の抑制、高齢者の健康維持、そしてヒト加齢性疾患の予防法・治療法の確立に大いに役立つことを期待したい。

## 文 献

- 1) 内閣府(編集), 高齢社会白書平成17年版(2005)「暮らしと社会」シリーズ, ぎょうせい, 東京, 2(2005)
- 2) Harman, D. The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc.* 20, 145 (1972)
- 3) Kujoth, GC. *et al.* Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress and apoptosis in mammalian aging. *Science.* 309, 482 (2005)
- 4) Pickles, JO. Mutation in mitochondrial DNA as a cause of presbycusis. *Audiol Neurotol.* 9, 23 (2003)
- 5) Seidman, M. *et al.* Molecular mechanism of age-related hearing loss. *Ageing Res Rev.* 1, 331 (2002)
- 6) Harman, D. Free radical theory of aging: dietary implications. *Am J Clin Nutr.* 25, 893 (1972)
- 7) Fleming, JE. Is cell aging caused by respiration-dependent injury to the mitochondrial genome? *Gerontology.* 28, 44 (1982)
- 8) Green, DR. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science.* 305, 626 (2004)
- 9) Hengartner, M.O. The biochemistry of apoptosis. *Nature.* 407, 770 (2000)

◀国内情報▶

## アグロバクテリウムT-DNAに秘められた「もう一つのチカラ」 —細菌遺伝子産物の色素体移行と代謝バイパス形成—

独立行政法人 理化学研究所 植物科学研究センター  
榊 原 均 ・ 笠 原 博 幸

土壌細菌 *Agrobacterium tumefaciens* の感染による植物の腫瘍形成はバラ科植物などでしばしば見られる病症である。この形態異常は感染により植物に組み込まれた細菌遺伝子群の働きで2種類の植物ホルモン（サイトカイニンとオーキシン）が過剰生産されるために起こる。我々は宿主植物細胞内で翻訳された細菌由来のサイトカイニン合成酵素が色素体内へ移行し、さらに非植物型の合成経路を新たに形成してサイトカイニンを効率良く生産することを明らかにした。

### 1. はじめに

土壌中には多様な微生物が生息し、共生や寄生など様々な形で植物と関わり合っている。土壌細菌である *Agrobacterium tumefaciens*（以下、アグロバクテリウムと呼ぶ）は植物に感染すると、クラウンゴールと呼ばれる腫瘍（図1）を形成する。サクラやバラの根付近にしばしば見られるコブはこの細菌の感染によるものであり、罹病した植物は生育不良などを起こす。アグロバクテリウムはTi-プラスミドと呼ばれる遺伝因子をもっており、植物に感染するとプラスミド上のT-DNA領域が植物細胞の核ゲノム中に転移される。このT-DNA領域には植物ホルモンであるサイトカイニンとオーキシンの合成酵素遺伝子などが含まれており、これらが植物細胞の制御とは独立に合成を行うために細胞内のホルモンバランスが崩れて腫瘍化する。また、腫瘍内では同じT-DNA上にコードされる遺伝子の働きによりノパリンなど特殊なアミノ酸が合成され、アグロバクテリウムはこれを栄養にして増殖する。特筆すべきは、このT-DNAを応用した遺伝子導入技術が遺伝子組み換え植物（作物）の作出に広く利用されており、アグロバクテリアは現在の植物科学に欠かせない

SAKAKIBARA Hitoshi, KASAHARA Hiroyuki  
〒230-0045 横浜市鶴見区末広町1-7-22

い生物となっている点である。

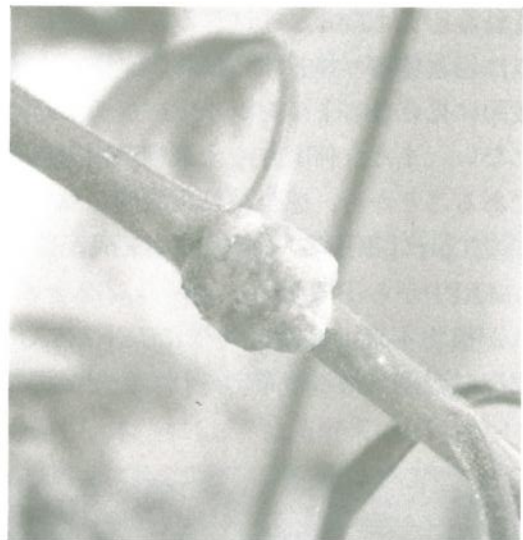


図1 アグロバクテリウムをトマトに感染させてできたクラウンゴール

サイトカイニンは細胞分裂や器官分化の制御など、植物生長に重要な役割を果たすホルモンである。近年、植物のサイトカイニン合成経路の全容解明が急速に進み、これまで考えられていた細胞質だけでなく、色素体がサイトカイニン合成における重要なオルガネラとして注目されるようになった<sup>1)</sup>。色素体における初期反応はサイトカイニン合成酵素であるアデノシンリン酸イソペンテニルトランスフェラーゼ (IPT) により触媒され、ジメチルアリルニリン酸

(DMAPP) とアデニンヌクレオチドからイソペンテニルアデニン (iP) ヌクレオチドが合成される<sup>2)</sup> (図2)。モデル植物であるシロイヌナズナにおいてiPヌクレオチドはP450酵素(CYP735A)によるプレニル側鎖末端への水酸化を受け、より強い生理活性を持つトランスゼアチン (tZ) 型サイトカイニンへと変換される<sup>3)</sup> (図2)。植物においてサイトカイニン合成の反応基質であるDMAPPは細胞質のメバロン酸経路と、最近発見された色素体のメチルエリスリトールリン酸 (MEP) 経路から合成される。これら2つの経路のうち、シロイヌナズナではMEP経路由来のDMAPPが主としてtZ型サイトカイニン合成に利用されることが示されている<sup>1)</sup>。

一方、アグロバクテリウムT-DNA上にコードされるIPTはTmrと呼ばれる。その遺伝子配列には色素体内へ移行する植物のタンパク質に一般的に見られるトランジットペプチドが認められない。また、何よりも土壌細菌由来の遺伝子であることから、感染植物細胞内において発現したTmrは細胞質内でメバロン酸経路由来のDMAPPからiP型サイトカイニンを合成し、これが植物本来の経路と同様にCYP735AによりtZ型に変換されると考えられていた (図2)。

しかし、クラウンゴール内にはtZ型が大量に蓄積している一方、前駆体のiP型は殆ど増加していないことが古くから知られており<sup>4)</sup>、Tmrが植物内で発現した際にiP型の量に影響を及ぼすことなく高活性のtZ型のみを優先的に生産・蓄積する仕組みについては不明であった。

## 2. 植物とアグロバクテリウムのサイトカイニン合成酵素の基質特異性の違い

筆者らは大腸菌発現系を用いてTmrとシロイヌナズナ由来のIPT (AtIPT) タンパク質を調製し、それらの候補基質に対する親和性を調べた<sup>5)</sup>。その結果、TmrはDMAPPの他にMEP経路の中間代謝産物であるヒドロキシメチルプテニルニリン酸 (HMBDP)<sup>6)</sup> もほぼ同じ効率で利用できることが明らかになった。HMBDPはイソプレン側鎖末端部分に水酸基を持つ。つまり、TmrはDMAPPを用いればiP型サイトカイニンを、HMBDPを用いればCYP735Aによる水酸化を経ずにtZ型サイトカイニンを直接合成できる能力を備えているわけである。一方、AtIPTはHMBDPに対する親和性は著しく低かった。実際にAtIPT遺伝子をシロイヌナズナで人為的に過剰発現させるとiP型が大量に蓄積し

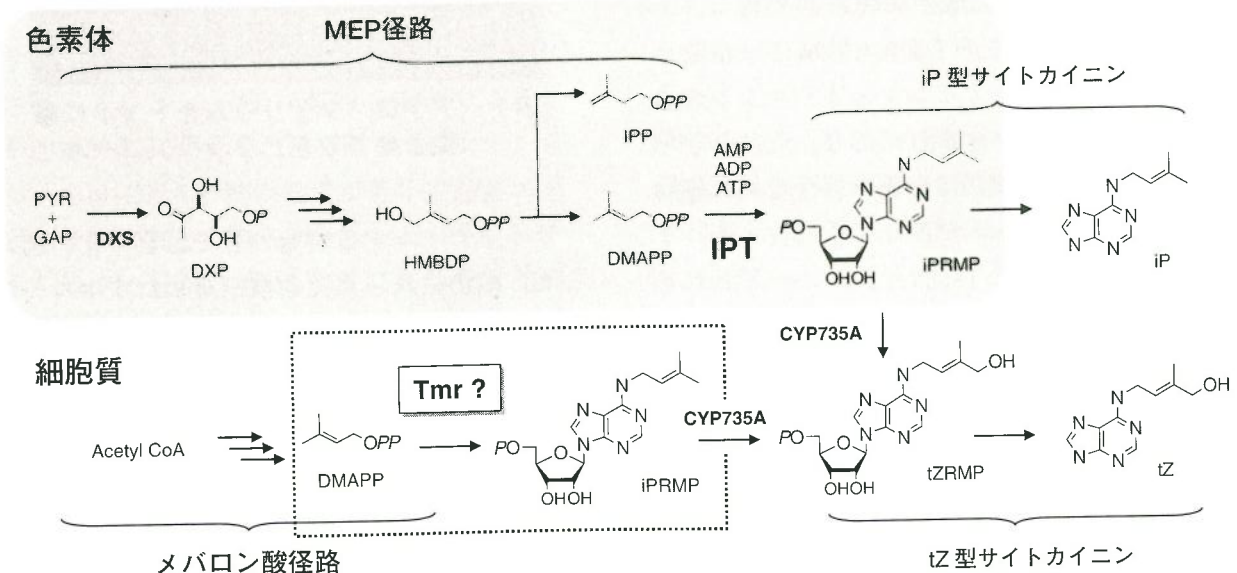


図2 植物色素体内のMEP経路とサイトカイニン生合成経路  
破線で囲まれた従来説部分が今回の研究で訂正された。

たが、Tmr遺伝子を過剰発現させた時にはクラウンゴールと同様にtZ型のみを大量に蓄積した。試験管内での基質特異性の結果を踏まえると、植物体内でTmr遺伝子を発現した場合にはiP型とtZ型の両方が蓄積するはずであるが、実際にはtZ型しか蓄積しない。この結果を説明しうる1つの可能性はTmrが色素体内に局在し、HMBDPを優先的に利用することであるが、Tmrには色素体移行に必要なトランジットペプチドが見あたらないという理論的な壁があった。

### 3. Tmrの色素体局在

そこで、筆者らはTmrと緑色蛍光タンパク質 (GFP) を融合させたキメラ遺伝子 (Tmr-GFP) をシロイヌナズナ細胞内で一過的に発現

させた。すると驚くべきことにTmrはトランジットペプチドを持たないにもかかわらず、Tmr-GFPの蛍光は色素体で観察された<sup>5)</sup> (図3)。Tmrの一部を削り込んだ解析から、この局在にはTmrのアミノ末端側約半分の領域 (124アミノ酸) が必要であることがわかった。Tmrの翻訳開始コドンのすぐ後ろには基質結合に必要なP-loopモチーフが存在していることから、酵素反応に必要な領域と色素体移行に必要な領域が重複していることになる。Tmrを過剰発現するシロイヌナズナ形質転換体を用いた解析においてもTmrの葉緑体局在が確認されている (図3)。

さらに実際のアグロバクテリウム感染細胞におけるTmrの細胞内局在を確かめるため、T-DNA領域がゲノム内に組み込まれているニチニチソウの培養細胞 (V208株) の色素体画分を用いて免疫化学的にTmrの局在場所を詳細に検討したところ、Tmrは色素体のストロマに局在していることが判明した<sup>5)</sup>。

### 4. Tmrによる色素体内の新たな代謝バイパス形成

Tmrが色素体内に局在することは証明できたものの、本当にMEP経路由来のHMBDPを基質として利用しているのかは判らない。そこで筆者らは安定同位体標識化合物を用いたトレーサー実験による検証を行った<sup>5)</sup>。先ず1-デオキシ-D-キシルロース5-リン酸合成酵素 (DXS) 阻害剤のケトクロマゾン (KC) によりシロイヌナズナの内生MEP経路を遮断し、これに<sup>18</sup>Oで標

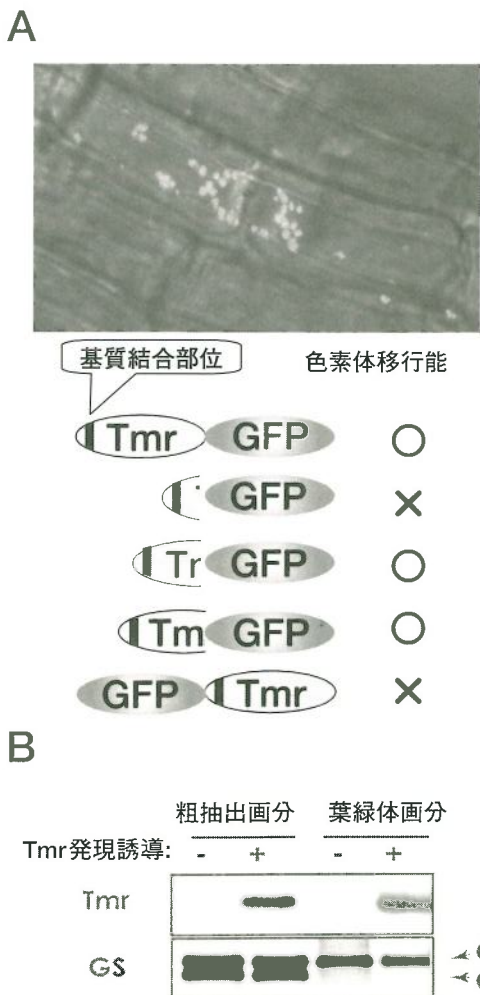


図3 Tmr-GFP融合タンパク質の色素体局在

A, Tmr-GFPをシロイヌナズナ根で一過的に発現させた際の蛍光像。様々なTmr-GFPを用いた際の色素体移行能のまとめを下に示した。

B, Tmrを過剰発現するシロイヌナズナの葉緑体画分を用いたウェスタン解析。Tmrタンパク質は葉緑体画分に検出された。GS<sub>1</sub>、GS<sub>2</sub>はそれぞれ細胞質、葉緑体局在のマーカートンパク質。

識した1-デオキシ-D-キシルロース ([3,4- $^{18}\text{O}_2$ ]DX) を投与することでMEP経路中間体を選択的かつ高効率で $^{18}\text{O}$ 標識化した。その後、植物組織からサイトカニンを抽出してtZ型への $^{18}\text{O}$ の取り込み率をLC-MSで解析することにより、HMBDPを利用して1ステップでtZ型を合成したか、iP型を経由して2ステップで合成したかを判別した(図4)。この時、HMBDPから直接合成した場合のみtZ型の水酸基に $^{18}\text{O}$ が取り込まれ、CYP735Aにより酸素原子が付加された場合は標識化されないと予想された。解析の結果、AtIPTを過剰発現させた形質転換シロイヌナズナ中に含まれるtZ型サイトカニンは $^{18}\text{O}$ 標識化されず、CYP735Aによる水酸化を経て合成されていた。これに対し、Tmrを過剰発現させたシロイヌナズナのtZ型サイトカニンは高効率で $^{18}\text{O}$ 標識化されており、HMBDPから直接合成されていることが判明した。同様の実験を前述のV208株と通常のニチニチソウ培養細胞CRA株で比較したところ、やはりCRA株のtZ型サイトカニンは $^{18}\text{O}$ 標識化されず、V208株でのみ $^{18}\text{O}$ の優位な取り込みが検出された。さらに、トマト茎部にアグロバクテリウムを感染させて形成したクラウンゴールに直接KCと[3,4- $^{18}\text{O}_2$ ]DXを注入した場合も同様にtZ型サイトカニンへの優位な $^{18}\text{O}$ の取り込みが確認された。以上の結果、Tmrは宿主植物の色素体内に侵入してDMAPPよりも代謝上流にあ

るHMBDPを優先的に利用できる新たなバイパスを形成し、1ステップで高活性型のtZ型サイトカニンを合成しているのである。通常条件下では植物とは異なる生活環を営む土壌細菌が、いったん植物に感染すると、植物細胞の色素体内にタンパク質を送り込むことで植物の代謝系を利用・改変して腫瘍形成を誘導・増殖するという生物学上非常に興味深い戦略を明らかにできたと考えている。

## 5. 今後の展開と課題

本研究では土壌細菌がもつ重層的な生存戦略の一端を明らかにすることができた。この背景には色素体のMEP経路の全容解明が急速に進んだことが挙げられる。Tmrの他にもT-DNA上にコードされる6b遺伝子は宿主細胞の核内に移行することが明らかにされているが<sup>7)</sup>、色素体のように脂質二重膜で厳格に区切られたオルガネラ内へ移行するような例は今回が初めての報告であり、寄生・宿主生物間の相互作用の成り立ちを考える上で非常に興味深い事象である。このような寄生生物による宿主の代謝改変戦略は今後、他の生物種間でも見つかるかも知れない。また、Tmrが既知のToc-Ticシステムを介して色素体へ輸送されているのか、或いは未知の輸送システムが存在するのかを明らかにする必要がある。この機構の解明は色素体へ

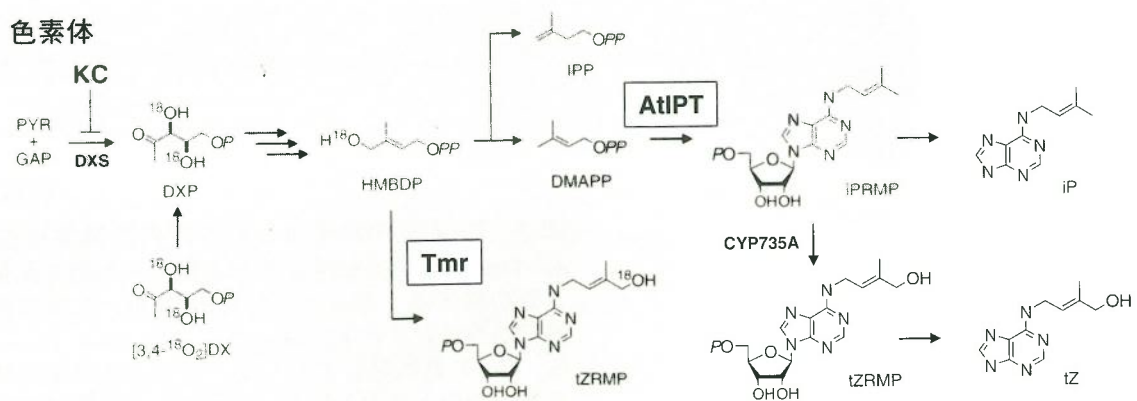


図4 安定同位体標識化合物によるサイトカニン合成経路の解析

の新規のタンパク質輸送システムの発見にもつながる可能性があり、興味深い課題である。また、色素体内にはHMBDPの他にDMAPPも存在するはずであるが、なぜTmrはHMBDPを優先的に利用可能なのか、生体内と試験管内での基質特異性の違いを分子レベルで説明することも今後の課題である。

## 文 献

- 1) Kasahara, H., Takei, K., Ueda, N., Hishiyama, S., Yamaya, T., Kamiya, Y., Yamaguchi, S., and Sakakibara, H. (2004) *J. Biol. Chem.* 279, 14049-14054
- 2) Sakakibara, H. (2005) in *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* (Davies, P. J., ed), pp. 95-114, Springer, Dordrecht
- 3) Takei, K., Yamaya, T., and Sakakibara, H. (2004) *J. Biol. Chem.* 279, 41866-41872
- 4) Morris, R. O. (1986) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 37, 509-538
- 5) Sakakibara, H., Kasahara, H., Ueda, N., Kojima, M., Takei, K., Hishiyama, S., Asami, T., Okada, K., Kamiya, Y., Yamaya, T., and Yamaguchi, S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 9972-9977
- 6) Hecht, S., Eisenreich, W., Adam, P., Amslinger, S., Kis, K., Bacher, A., Arigoni, D., and Rohdich, F. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 14837-14842
- 7) Kitakura, S., Fujita, T., Ueno, Y., Terakura, S., Wabiko, H., and Machida, Y. (2002) *Plant Cell* 14, 451-463



### ブレイン テクノニュース

バックナンバーのご案内  
第111号

2005年9月15日発行

#### 特 集 「匂いとフェロモンの科学」

- 1 匂いとフェロモン受容の分子メカニズムとその研究の現状  
.....佐藤 幸治・東原 和成
- 2 嗅覚系における神経細胞の個性獲得と多様性識別  
.....坂野 仁
- 3 哺乳類におけるフェロモン研究の現状と展望.....森 裕司
- 4 昆虫の脳におけるフェロモンと匂いの情報処理と行動発現  
機構.....加沢 知毅・岡田 公太郎・神崎 亮平

#### 国内情報

レドックス制御を包括的に解析できるジスルフィドプロテオーム—ポストゲノム研究の有効なツール：原理と応用—  
.....矢野 裕之・黒田 秋

砂糖及びセルロースを原料とした酵素合成アミロースの製造と利用.....鷹羽 武史・和田 守・北村 進一  
カシノナガキクイムシ集合フェロモンの化学構造決定—ナラ類集団枯死の回避を目指して—.....中島 忠一  
携帯式作物生育情報測定装置の開発

.....堀尾 光広・紺屋 秀之・西村 洋・林 和信

#### 地域の先端研究

バラのアントシアニン生合成における新規糖転移酵素の発見  
.....緒方 潤・菅野 善明・鈴木 正彦

#### 文献情報

搾乳牛の第1卵胞波における卵胞への血液供給量の変化  
.....(抄訳：下司 雅也)  
ブルーティラピア (*Oreochromis aureus*) の性別を支配する二つの非連鎖遺伝子座 .....(抄訳：Chen Weimin)  
DC-SIGNを介した樹状細胞の機能調節によりIL-10を産生する調節性T細胞を誘導する乳酸菌.....(抄訳：野中 敦子)  
花成ホルモン発見か?.....(抄訳：岩井 純夫)

#### 生研センターからのご案内

## ◀国内情報▶

## マツタケは遺伝的にモザイク

<sup>1</sup>独立行政法人 森林総合研究所, <sup>2</sup>滋賀県森林センター,  
<sup>3</sup>信州大学 農学部応用生命科学, <sup>4</sup>岩手県林業技術センター  
 村田 仁<sup>1</sup>・太田 明<sup>2</sup>・山田 明義<sup>3</sup>・成松 眞樹<sup>4</sup>・二村 典宏<sup>1</sup>

マツタケは、根圏集落「シロ」の成長過程で子実体を発生する。我々は、集団遺伝学的解析をすることにより、シロの成長には子実体からの孢子飛散が深く関与していること、その結果シロでは遺伝的に異なる菌糸が混在し協調しあうモザイク現象が起きていることを明らかにした。本研究成果から、マツタケ山の再生と保全には、モザイク現象を考慮した①計画的な収穫、②環境整備、③優良菌株の選抜などが必要であると考察された。

## 1. はじめに

マツタケの国内生産量は、1940年代を境に激減の一途をたどり、2002年の年間生産量はついに52t（1941年に記録した12,000tのわずか0.4%）にまで落ち込んだ。

マツタケは針葉樹の根の細胞間隙に宿り、菌根と呼ばれる植物-菌糸の共生体を作って生きている（図1）。この菌根とマツタケ気中菌糸が樹木の根圏で発達し、塊状の集落「シロ」となる（図1）。シロは、10年でせいぜい直径3m程度というゆっくりとした速度で、宿主樹木を中心に円を描くように成長する。このシロの成長過程で子実体が発生する。一方、子実体から培地上に飛散したマツタケ孢子を発芽させることは困難である。このような状況から、マツタケは、その生活環を菌

MURATA Hitoshi<sup>1</sup>, OHTA Akira<sup>2</sup>,  
 YAMADA Akiyoshi<sup>3</sup>, NARIMATSU Maki<sup>4</sup>,  
 FUTAMURA Norihiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>〒305-8687 茨城県つくば市松の里1番地

<sup>2</sup>〒520-2321 滋賀県野洲市北桜978-95

<sup>3</sup>〒399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村8304

<sup>4</sup>〒028-3623 岩手県紫波郡矢巾町大字煙山  
 第3地割清水560-11

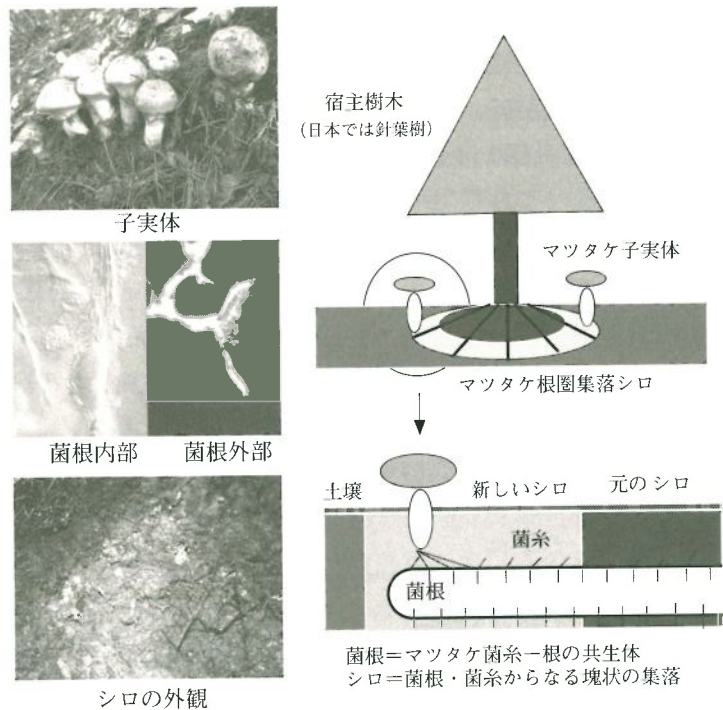


図1 マツタケ集落の模式図

糸伸長（栄養成長）に依存して集落をつくる菌根性きのこととして考えられ、子実体からの孢子飛散（生殖成長）に依存するきのではないというのが常識であった。このため、シロは大事にされる一方で、子実体は全て収穫されてきた。

レトロトランスポゾン、真核生物の染色体進化に深く関わったDNA因子である<sup>1-3)</sup>。前回、我々は、レトロトランスポゾン「marY」を遺伝子マーカーに用いたマツタケの個体識別



表1 マツタケ菌株

菌株	採集場所 <sup>a)</sup>	採集年月日
Tm024	滋賀県甲南郡水口試験地, シロ M3 (北緯 34° 55', 東経 136° 6', 標高 320 m)	1983. 10. 11
Tm027	滋賀県甲南郡水口試験地, シロ M3	1983. 10. 14
Tm029	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S1 (北緯 34° 55', 東経 136° 7', 標高 270 m)	1983. 10. 14
Tm040	滋賀県甲南郡水口試験地, シロ M7	1991. 10. 11
Tm043	滋賀県甲南郡水口試験地, シロ M7	1991. 10. 14
Tm050	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1991. 10. 26
Tm068	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1993. 10. 7
Tm069	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 2
Tm070	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 2
Tm071	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 6
Tm072	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 6
Tm073	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 6
Tm074	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 11
Tm075	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 11
Tm076	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 11
Tm077	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 11
Tm078	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 11
Tm079	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 11
Tm080	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 14
Tm081	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 14
Tm082	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 14
Tm083	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 18
Tm084	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S6	1994. 10. 21
Tm085	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S1	1994. 10. 14
Tm086	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S7	1994. 10. 14
Tm099	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S9	1998. 11. 4
Tm100	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S4	1998. 11. 4
Tm114	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S1	2001. 10. 9
Tm124	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S10	2003. 10. 14
Tm125	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S10	2003. 10. 14
Tm126	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S10	2003. 10. 14
Tm127	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S5	2003. 10. 21
Tm128	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S5	2003. 10. 21
Tm129	滋賀県甲南郡甲南試験地, シロ S5	2003. 10. 21
AT-634	茨城県盛金試験地, B1 (北緯 36° 41', 東経 140° 24', 標高 240 m)	1997. 10. 6
AT-635	茨城県盛金試験地, B7	1997. 10. 8
AT-636	茨城県盛金試験地, B2	1997. 9. 30
AT-637	茨城県盛金試験地, B4	1997. 9. 30
AT-638	茨城県盛金試験地, B6	1997. 10. 8
AT-639	茨城県盛金試験地, B5	1997. 10. 6
AT-640	茨城県盛金試験地, B3	1997. 10. 6
AT-641	茨城県盛金試験地, B1 (AT-634の胞子由来菌株)	1997. 10. 6
AT-642	茨城県盛金試験地, B5 (AT-639の胞子由来菌株)	1997. 10. 6
AT-643	茨城県盛金試験地, B5 (AT-639の胞子由来菌株)	1997. 10. 6
IW-92604-2	岩手県四日市試験地, W1 (北緯 39° 56', 東経 141° 14', 標高 370 m)	2002. 9. 26
IW-92604-4	岩手県四日市試験地, W1	2002. 9. 26
IW-100704-2	岩手県四日市試験地, W1	2002. 10. 7
IW-100704-3	岩手県四日市試験地, W1	2002. 10. 7
IW-100704-4	岩手県四日市試験地, W1	2002. 10. 7
I-84	岩手県四日市試験地, W2	2001. 10. 4
I-114	岩手県四日市試験地, W2	2001. 10. 4
TM-4	メキシコ	1991. 10. -

<sup>a)</sup> TM-4以外は全てアカマツ林で採集した。特に指定の無い限り菌糸は子実体より分離した。

法を開発した<sup>4)</sup>。本研究では、この個体識別法を用いて、シロがどのような遺伝型のマツタケ菌糸で構成されているかを解析した<sup>5)</sup>。

## 2. 生殖成長のシロ形成への関与

我々は、滋賀県の2試験地にある9個のシロ、及び茨城県と岩手県の試験地にあるごく小さなマツタケ集落でマツタケ子実体の発生状況を調べた(表1)。そして、採集したサンプルについて系統遺伝学解析をした。サンプルから抽出したDNAとプライマー

(pS1 = GCACCCCTAGTCCCCTTACA, [ $T_m$  = 68])

を用いてPCRし、PCR産物をアガロース電気泳動した後、0-1法で解析した<sup>4, 5)</sup>。

その結果、シロは異なる菌株の集合体、つまりモザイクであることが明らかになった(表1, 図2)。また、滋賀県、茨城県、岩手県の試験地間での比較でも、地域内での遺伝的均一性はあまり見られず、むしろ様々な菌株が混在していた(表1, 図2)。もし、マツタケが栄養成長に依存した菌根菌であれば、それぞれのシロや試験地の集団は遺伝的に均一である。しかし、本結果は、シロや試験地での異なる菌株の混在を示すことから、生殖成長を介した胞子飛散がシロの成長、ひいては子実体発生に深く関与していると考察された(図3)。

一般的にきのこは、胞子由来の1核菌糸同士、もしくは胞子由来の1核菌糸と栄養成長由来の2核菌糸の間で交雑する。このような現象が、シロのモザイク化に関与しているのではないかと考えられる(図3)。

## 3. 菌糸間協調

個々の子実体の遺伝型と発生状況を比較してみると、菌株間での協調がシロ内で起こっていると考えられる。1994年に記録した滋賀県のシロS6での子実体発生状況を例に以下に述べる(表1, 図2)。子実体発生が無かったシロS4

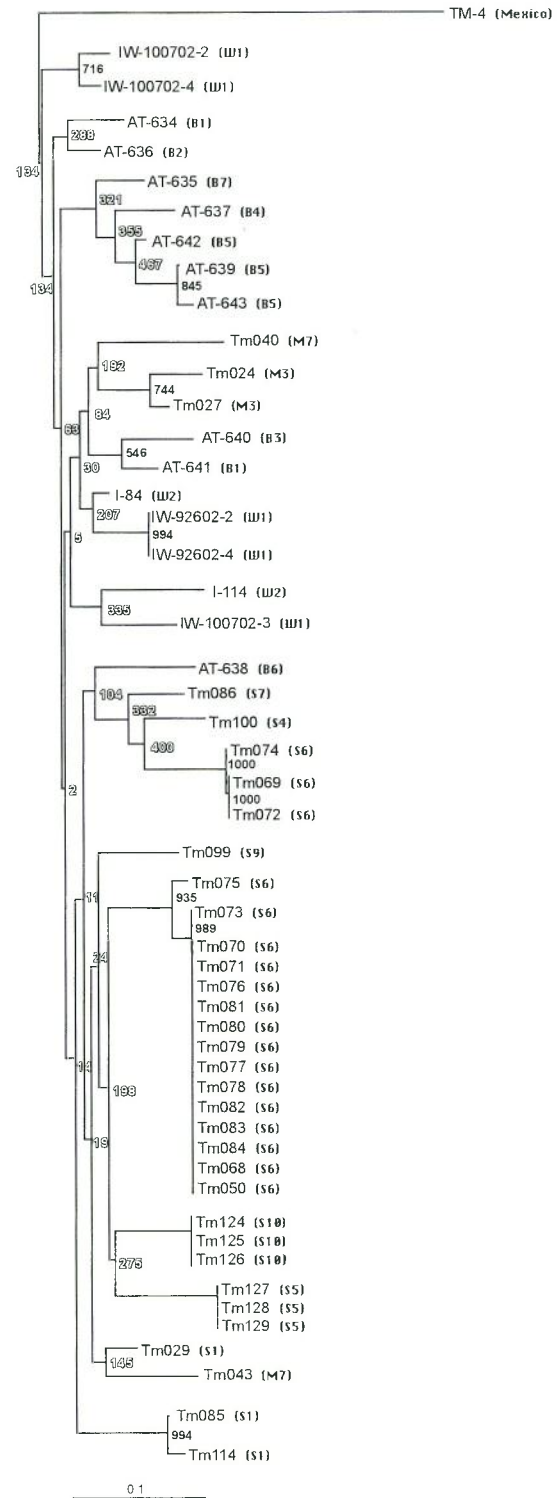


図2 系統解析結果

に由来する系統(Tm069, Tm072, Tm074)と、シロS5やS10に由来する系統(Tm070, Tm071, Tm073など)が混在することで、シロS6では両系統が同年に同時期に子実体を発生した(表1, 図2)。この同一シロ内での異なる菌株の

子実体同時発生の傾向は滋賀県 2 試験地の複数のシロ、及び岩手県と茨城県の試験地でも認められた(表 1, 図 2)。子実体発生時における異なる菌株の協調性は、栽培きのこのナメコで実験的に証明されている<sup>6)</sup>。この異なる菌株の集団が一菌株のごとく振る舞う傾向は子実体発生のみならず、シロの成長や胞子発芽などにも関与しているのではないかと考えられる。通常困難といわれる培地上でのマツタケの胞子発芽は、子実体のヒダごと培地上で培養することで可能になる。つまり、ヒダの周りに高濃度で堆積した胞子は発芽が容易におこる。また、*n*-酪酸処理により胞子発芽が促進されることから何らかの菌糸間シグナルが関与していることが伺える。

#### 4. 今後の展望

本研究結果は、マツタケ子実体発生に不可欠なシロの成長には、子実体からの胞子飛散を介したモザイク化、さらにモザイク下での菌糸間協調が重要であることを示す。そして、胞子飛散とそれに続くモザイク化は、世代交代を図りながらシロの拡大と長期的な定着を行うという意味があるのではないかと考えられる。

マツタケ山の維持管理に林地施業が有効と言われる。これは、マツ林の中の雑木や下草、落ち葉や腐葉土を取り除き、マツとシロだけにする処置である。何故これが有効かという科学的根拠は今まで無かった。しかし、本研究から、林地施業は、胞子飛散と胞子発芽、及びそれに続くモザイク化を容易にさせるのではないかと考えられる。

マツタケ山の再生と保全を進めるために生産

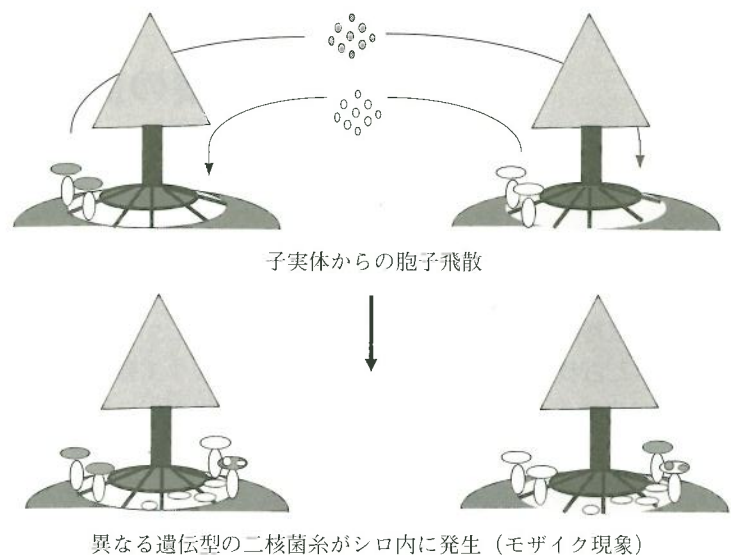


図 3 モザイク化の模式図

現場で出来ることとして、子実体の計画的収穫の実施やモザイクが起りやすい環境整備が考えられる。一方、研究機関の対応としては、子実体発生やシロ形成を促進するなどの優良形質をもった菌株を選抜することが必要であると考えられる。

#### 文 献

- 1) Murata, H., Yamada, A. (2000), *Appl. Environ. Microbiol* 66, 3642-3645.
- 2) Murata et al. (1999), *Mycologia* 91, 766-775.
- 3) Murata, H., Babasaki, K. (2005), *Mycorrhiza* 15, 381-386.
- 4) Murata et al. (2005), *Mycorrhiza* 15, 179-186.
- 5) Murata et al. (2005), *Mycorrhiza* 15, 505-512.
- 6) Babasaki et al. (2003), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67, 100-106.

## ◀国内情報▶

## ねぎ収穫機の開発と利用状況

独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構  
 生物系特定産業技術研究支援センター  
 青 木 循

ねぎの収穫作業の省力化、効率化などを目的として、ねぎ収穫機が開発された。開発されたねぎ収穫機は、畝立栽培された白ねぎの掘取り、土落とし、収容までを1工程で行うことのできる自走式の乗用型収穫機である。収穫・結束・搬出までを行った場合の標準的な作業能率（ほ場作業量）は、1名作業で最大1.2a/h、2名作業で最大3.0a/h程度であり、慣行の人力作業に比べ軽作業となり、能率が3倍程度となった。現在、各地で導入が進んでおり、今後も普及拡大が見込まれる。

## 1. はじめに

平成15年度の全国のねぎの作付面積は23,600 haで、396,700tが全国に出荷されており、その約8割が白ねぎである。都道府県別の出荷量では、千葉県が最も多く64,600tとなっており、続いて埼玉県、茨城県と関東地方の各県が上位を占めている。関東地方以外では北海道の出荷量が多い。

平成9年度までのねぎの輸入量は10,000t以下で推移していたが、平成10年の国内産ねぎの不作を期に、主に中国からのねぎの輸入量が急増し、平成11年には一般セーフガードの暫定措置を発動するまでに到った。このような事態に対応して、農林水産省では、「低コスト化タイプ」、「契約取引推進タイプ」、「高付加価値化タイプ」の3つ戦略モデルから成る「野菜の構造改革対策」を平成13年から実施し、各産地では「産地改革計画」を策定して、その目標に向けた様々な取り組みを行ってきた。なかでも「低コスト化タイプ」では、輸入野菜にコスト面で対抗できるような産地形成を実現するため、ねぎなどを対象として、機械化一貫体系を導入することによる、労働時間の短縮、生産規模の拡大を図り、人件費を含めた生産コストの削減などの取り組みが行われてきた。また、近年輸入

AOKI Jun

〒331-8537 さいたま市北区日進町1-40-2

野菜にシェアを奪われている加工・業務用を中心とした国産野菜のシェア奪回を図るため、平成13年から実施していた「野菜の構造改革対策」に引き続いて、平成17年度には「野菜の新構造改革対策」が実施され、輸入野菜との品質・価格競争に打ち勝つ力強い生産供給体制の確立を目指した取り組みが行われている。

ねぎの生産においては、土壌管理から育苗、定植、施肥、防除、収穫、調製、出荷などの作業があり、収穫、調製を合わせて全体作業の約半分の作業時間となっている。なかでも収穫作業は、掘取機や人手で畝を崩した後、抜取りなどの収容作業は人力で行われている地域が多く、腰を曲げた状態での作業を強いられるため重労働であり、その省力化が強く要望されている。

生研センターでは、ねぎの収穫作業の省力化、効率化などを目的として、平成7年～9年にかけて、農業機械等緊急開発実用化事業において民間企業とともにねぎ収穫機の開発を行い、掘取りから収容まで一人で行うことのできる乗用の全自動収穫機を開発した。この機械は新農業機械実用化促進株式会社の実用化促進事業を通じて、平成10年に実用化されている。以下にその概要を紹介する。

## 2. 機械の概要

開発したねぎ収穫機は、畝立栽培された白ね

ぎの掘取り、土落とし、収容までを1工程で行うことのできる自走式の乗用型収穫機である。4.6kWのガソリンエンジンを搭載しており、機体重量は717kgである。

収穫機は主に、移動を行う走行部と掘取り、搬送を行う収穫部で構成されている。

走行部はクローラ式で無段変速であり、信地旋回機構を装備している。また、機体は左右水平制御機構を装備しており、常に水平に保った状態で作業が行える。

収穫部は、固定式の掘取り刃、土砂分離機構、搬送用の挟持ベルトなどから成り、固定式の掘取り刃とバーコンベアでねぎを根部周辺の土壌とともに掘り上げ、ベルトで挟持しながら根に付いた土を落とす機構により土砂を分離し、整列した状態で収容することができる。機体後方には収穫したねぎを収容するための荷台が付いており、最大100kgまでのねぎを収容することができる(図1、表1)。

作業時は機体前部の左右ゲージ輪が畝を挟んで本機が進むため、作業開始時に掘取り深さを設定すれば、その後は調節なしに作業を行うことができる。また、ねぎを

掘取った後、収穫機が走行する畝の状況が変化しても左右水平制御機構により水平を保つことができる。

適応栽培様式は、1畝1条栽培で条間75cm以上、畝高さ30~50cmであり、畝頂部の幅が著しく広い場合は、掘取り速度を遅くする等の対応が必要である。

機体前面掘取り方式であるため、どの畝からでも自由に作業を行うことができ、旋回に必要な枕地長さは約3mである。

表1 ねぎ収穫機の主要諸元

形式		乗用・自走式(1条用、一斉収穫方式)	
機体寸法	全長[mm]	4120	
	全幅[mm]	1350	
	全高[mm]	1600	
機体質量[kg]		717	
走行部	クローラ幅×接地長[mm]	200×980mm	
	クローラ中心間距離[mm]	720	
	走行速度[m/s]	前進	低速:0~0.2, 高速:0~0.85
		後進	低速:0~0.17, 高速:0~0.7
	旋回方式	信地及び超信地旋回	
	水平装置	機体左右水平制御方式	
収穫部	掘取幅[cm]	40	
	掘取方式	固定刃・バーコンベア	
	土砂分離機構	ゴム付き回転爪方式・突起付回転ドラム方式	
	搬送方式	スポンジ付挟持ベルト	
	収穫積載量[kg]	100	
機関	形式	空冷4サイクルガソリン	
	定格出力	4.6kW/1800rpm	
適応栽培様式	条間(畝間隔)	75cm以上	
	畝高さ	30~50cm	

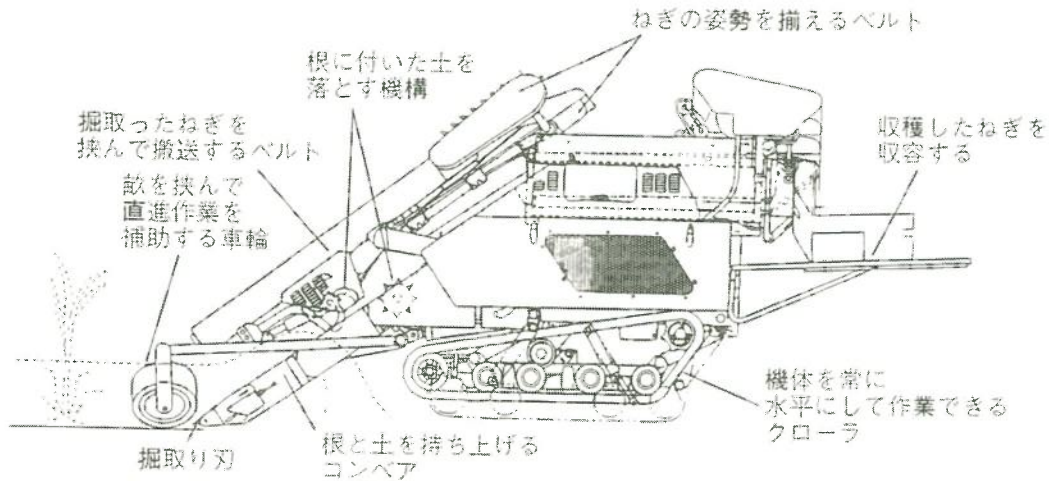


図1 ねぎ収穫機の概要

### 3. 作業性能

埼玉県、大分県、鹿児島県など全国各地でねぎ収穫機の利用試験を行い、以下のような性能が確認された。

標準的な作業速度は、1名作業で0.03m/s、2名作業で0.06～0.16m/sの範囲で作業が可能であり、ねぎの損傷はほとんどなく、出荷に問題はなかった。

収穫・結束・搬出までを行った場合の標準的な作業能率（ほ場作業量）は、1名作業で最大1.2a/h、2名作業で最大3.0a/h程度であり、慣行の人力作業に比べ軽作業となり、能率が3倍程度となった。

ほ場間移動する場合には、機体の前部を折りたたむことが可能で、走行速度は最大0.85m/s程度であった。

また、乾燥して硬度の高い粘質土壌や雨上がりの重い砂質土壌など、収穫期の天候や土壌条件に比較的広く対応でき、計画的な収穫・出荷作業が行えた。

### 4. 普及状況と利用事例の紹介

ねぎ収穫機は平成10年度に市販され、初年度は10台の普及に留まったものの、その後徐々に全国各地に導入され始め、平成13年度には年間150台以上普及し、その後も順調に普及台数が増え、現在までに全国に600台以上が普及している。生産者の間では高齢化や後継者不足が進んでおり、重労働である収穫作業への機械の導入要望は非常に強く、今後も収穫機の普及拡大が見込まれている。

以下に、ねぎ収穫機の導入事例をいくつか紹介する。

まず、茨城県坂東市の岩井農業協同組合の事例を紹介する。

坂東市は茨城県の南西部に位置し、平成17年3月22日に岩井市と猿島町が合併した地域で、東京から50～60km圏内にある面積123.18km<sup>2</sup>を占める地域である。レタス、ねぎが農家経営の

中心品目であり、首都圏及び地方都市への生鮮野菜の供給基地として重要な役割を担っている。この地域の年間のねぎの栽培面積は300ha程度で、夏ねぎの産地である。

この地域では以前からねぎの機械化、省力化による労働時間の短縮を図るため、機械化一貫体系を目指した取り組みを行っている。これまでに播種機や移植機、防除機、収穫機、調製機などの導入を推進してきたが、なかでも収穫機は200台以上も生産者に利用されている(図2)。収穫機を導入したことにより、収穫作業が従来約1/3程度となり、労働時間を431.3時間/10aから376.2時間へと削減できた。それにより、1戸当りの栽培面積を57aから68aへと規模拡大することが可能となったほか、適期収穫が実現された。今後の取り組みとしては、農地の集積や基盤整備を進めて、ねぎ収穫機の有効利用を図っていく予定である。



図2 茨城県での利用の様子

次に、秋田県のあきた白神農業協同組合の事例を紹介する。

この地域は米を主体にねぎ、ミョウガ、キャベツ等の野菜の産地であり、ねぎの栽培面積は73haである。

作業能率の向上や労働力の軽減を図ることなどを狙って、平成11年度には、ねぎ収穫機が5台導入されている。ねぎの機械化一貫体系による省力化と規模拡大を図りながら、効率的・安定的な生産出荷体制の確立・産地の発展を目指

している。従来の人力による抜取りに比べ、ねぎ収穫機を利用することで運転しながらねぎの掘り上げ、土砂分離、結束等の収容作業が一人で行えるため、従来の2倍以上の高効率で、収穫作業時間の短縮と作業人員の削減を図れた。また、結束作業も立ち姿勢のまま行うことができ、生産者は重労働から解放された。今後は、規模拡大や短期間で収穫する必要のある夏ねぎでの利用が期待されているほか、調製出荷作業の体制整備が必要とされている。

最後に、富山県の事例を紹介する。

富山県では、昨今の米価の低迷及び転作の増加により、主穀作営農組織の経営は厳しく、米・麦・大豆販売以外の収入を確保し（複合化）、経営の安定化を図る必要が生じている。そこで、米・麦・大豆に比べて10a当りの販売金額が高く、県の主要な野菜の一つであるねぎの導入による複合化を進めてきた。

当県では、ねぎ栽培において市場の国際化に対応できる高度な生産体制を確立するため、行政、普及センター、富山県農業技術センター野菜花き試験場が連携して、平成11年度から15年度にかけて、ねぎ栽培の省力低コスト化、高付加価値化に取り組んできた。従来の作業では、簡易移植機や歩行型管理機などの簡単な機械を用いて栽培を行っていたため、10a当りの労働時間は400時間を超え、辛い作業が多く、栽培面積の拡大は困難な状況であった。そこで、作業の省力化を目指して、定植機、ねぎ用に改良したハイクリアランス型トラクタ、ねぎ収穫機などを導入し、育苗から調製作業までの機械化一貫体系を確立した。なかでも収穫作業においては、これまで管理機で土を除き、手で掘取りを行っていたため屈み作業の時間が長く、辛い作業であったが、ねぎ収穫機を導入したことによって慣行作業の45%程度まで作業効率を向上させることが可能となった。大規模な法人経営体へ機械化一貫体系を導入した場合、10a当りの作業時間を従来の約半分に削減できるため、栽培面積を4haまで規模拡大することができ、生産コストの低減が可能となった（図3）。

この他、本州のみならず、作付面積で上位に位置する北海道などでもねぎ収穫機が利用されており、今後も全国各地でねぎ収穫機の利用が拡大されていくものと考えられる。



図3 富山県での利用の様子

## 5. 開発中の運搬車との組み合わせ利用

ねぎ収穫機と開発中の運搬車を組み合わせて利用することで、収穫作業の軽労化を実現する取り組みを以下に紹介する。

現在、ねぎ収穫機を用いた収穫作業では、収穫したねぎを収容するために収穫機後部の荷台を利用することが多いが、収穫機の荷台はそれほど広くないため、1工程で収容できるねぎの量に限りがあり、能率を向上させるためには運搬車などとの組み合わせ作業が必要となってくる。しかし、市販されている運搬車を組み合わせる場合には、運搬車を操作するためのオペレーターが必要であり、労力の確保が問題となる。また、1名で作業を行う場合には、荷台に収容したねぎをほ場外のトラックまで運搬車を用いてほ場内運搬する際に、収穫機から離れた場所に置いてある運搬車を取りに行く必要があるため、徒歩での移動が多くなり、作業が複雑になるほか、運搬車への積替えが必要となるため重労働である。

生研センターでは、野菜の収穫機に自動追従して収穫物の運搬を行うことのできる運搬車の開発を行っている。この運搬車は収穫機と運搬

車をロープ等により連係することで、作業を行う際に自動的に収穫機の後を追従走行することができる。このため作業者は直接運搬車に収穫物を収容できるため、収穫機の荷台から運搬車への収穫物の積替え作業が1工程省略でき、作業者の軽労化につながる。また、運搬車の荷台が収容物で一杯になったら、連係部を外してそのままほ場外のトラックまで運搬することができ、作業者が離れたところに置いてある運搬車を取りに行く必要がなくなるため、作業が簡素化される。

群馬県のねぎ栽培農家ほ場において、ねぎ収穫機と追従型野菜運搬車を組み合わせて利用した結果、収穫作業は0.03m/s程度の速度で円滑に行われ、全体作業時間に占める収穫の割合は60%、移動、その他の時間は40%であった。作業能率は16.1人h/10aで作業者からは作業が楽になったとの評価が得られた(図4)。

## 6. おわりに

生産者の高齢化や後継者不足などの問題は今後も拡大する傾向にあり、ますます機械化による農作業の軽労化・効率化が必要になってくる。このような情勢にあって、ねぎ収穫機はこれらの問題を解決する機械導入の代表例の一つだといえる。今後は、輸入品への対抗などの観点からも、ねぎ栽培における機械化一貫体系の推進が必要であり、その中心的な役割をねぎ収穫機が担っていくものと考えている。



図4 追従型運搬車との組み合わせ作業の様子

## 文献

- 1) 農林水産省統計部編, 平成15年産野菜生産出荷統計, 69.
- 2) 津賀幸之介, わが国初の乗用・全自動ねぎ収穫機, グリーレポート, No.299 (98.7.1号), 8-9.
- 3) 藤岡修, (2003), ネギの作業体系別機械とその特徴, 機械化フォーラム'03最新野菜作関連機械一覧, 59-64.
- 4) 紺屋朋子, (2005), ネギ収穫機と長ネギ調製装置の開発, 今月の農業, 2005年4月号, 96-99.
- 5) 西畑秀次, (2005), ネギ栽培の省力低コスト化, 高付加価値化, 農村ニュース, 新年特大号, 52-55.
- 6) 新農業機械実用化促進株式会社ホームページ (<http://www.shinnouki.co.jp/index.html>).



## ◀文献情報▶

## 暑熱感作はウシ卵子の発生能を低下させるとともに紡錘体の形状を変化させる

Heat shock reduces developmental competence and alters spindle configuration of bovine oocytes.

Jyh-Cherng Ju<sup>a,c</sup>, Shie Jiang<sup>a</sup>, Jung-Kai Tseng<sup>c</sup>, John E. Parks<sup>b</sup> and Xiangzhong Yang<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Animal Science and Center for Regenerative Biology, University of Connecticut U-4243, Storrs, CT 06269, USA

<sup>b</sup>Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA

<sup>c</sup>Department of Animal Science, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan, ROC

*Theriogenology*, 64 (2005): 1677-1689

夏季における気温の上昇は、家畜の受胎率を低下させる大きな要因である。ウシ卵子や胚の品質は寒い季節よりも暑い季節の方が低いこと、ウシの直腸温が高くなると交配後に回収される異常胚の割合が高まることが知られている。暑熱期の受胎率低下や胚の品質低下がどのようなメカニズムでもたらされるのかは明らかではないが、受精前の卵子への暑熱感作による障害が原因のひとつと考えられている。また、暑熱感作の期間や感作温度の高低によっても異なるが、細胞の種類や器官の違いによって、暑熱感作は一方では高温への許容度を高める可能性もあるが、他方では有害な障害をもたらす可能性がある。そこで、減数分裂の第2分裂中期のウシ体外成熟卵子への暑熱感作が、体外受精後の発生能や細胞骨格にあたえる影響が検討された。まず、標準的な培養方法でウシ卵丘細胞卵子複合体を20時間成熟培養し、減数分裂の第2分裂中期まで発育させた。その後、42度で0(対照区)、1、2あるいは4時間暑熱感作を与えた。暑熱感作後のウシ卵子を体外受精後、KSOM培地で8日間発生培養を行い、胚盤胞

への発生率等に及ぼす影響を検討した。その結果、暑熱感作の有無によって卵割率に差は認められなかったが、4時間暑熱感作を与えた群の胚盤胞への発生率(27%)や胚盤胞の総細胞数(82±21個)は、暑熱感作を与えない対照区の胚盤胞への発生率(44%)や胚盤胞の総細胞数(108±36個)に比べて有意に低下した。また、内部細胞塊の細胞数には暑熱感作の有無による差は認められなかったが、4時間暑熱感作を与えた群の栄養膜の細胞数は暑熱感作を与えない対照区に比べて有意に少なかった。次に、1から4時間暑熱感作を与えた体外成熟卵子の減数分裂における紡錘体の形態の変化を検討したところ、暑熱感作を与えた卵子における減数分裂の第2分裂中期の紡錘体の形状には、暑熱感作を与えない対照区の卵子の紡錘体に比べて異常な形態を示すものが多く認められた。

暑熱感作を与えた後の紡錘体の形状の変化や胚盤胞の栄養膜細胞数の特異的な減少がおこるメカニズムは不明である。しかし、紡錘体の形態的な異常は、染色体異常を起し胚発生率を低下させる可能性がある。また、反芻家畜においては栄養膜細胞から分泌されるインターフェロントウが妊娠認識に重要な役割をはたしており、暑熱感作による栄養膜細胞数の減少によって産生されるインターフェロントウ量が不足し、妊娠認識に失敗して早期胚死滅を引き起こす可能性も考えられる。暑熱期の受胎率の低下は畜産現場において非常に重要な問題であり、暑熱が卵子・胚や母体にどのような影響を与えるかをさらに明らかにするとともに、暑熱期の受胎率低下を少しでもおさえる管理技術の開発も必要である。

(抄訳：下司雅也，GESHI Masaya，独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所)

## ◀文献情報▶

酵母*Pichia pastoris*を用いた酸性  
フィターゼの高発現

High level expression of a recombinant acid  
phytase gene in *Pichia pastoris*.

Xiong AS, Yao QH, Peng RH, Han PL, Cheng  
ZM, Li Y

Agro-Biotechnology Research Center of  
Shanghai Academy of Agricultural  
Sciences, Shanghai, China.

*J. Appl. Microbiol.* 98, 418-428 (2005)

フィチン酸は穀物中の主要なイノシトール源であると同時に、穀物中のリンの多くがこの形で存在している。一方で、鉄や亜鉛などキレートするため、ミネラルの摂取を妨げてしまう。家禽や豚などの単胃動物では、フィチン酸を加水分解する酵素、フィターゼの活性が著しく低い、もしくは全く活性がない。そのためフィチン酸由来のリンを利用することができない。その結果そのような動物が必要とするリンを補うために多量の無機リンを飼料中に加えなければならず、同時に家畜糞尿中に含まれる未消化のフィチン酸は深刻なリン公害や富栄養化などの環境問題の原因にもなっている。

しかし、単胃動物への飼料中にフィターゼを添加することにより、リン利用向上・糞尿中のリン減少が見られるということが確認されている。

過去数十年の間に、多くの微生物や植物からフィターゼ遺伝子が単離されており、その中でも *Aspergillus niger* SK-57 の作り出すフィターゼはフィチン酸に対して高い活性を持っていることが知られているが、発現レベルが低く、動物の飼料に添加をするには不向きであるとされてきた。

そこで本報では、フィターゼの商業利用を視野に入れ、酵母 *Pichia pastoris* を用いた大量発現系の確立を試みた。*P. pastoris* は、アルコールオキシダーゼ (AOX) のプロモーターを用いることで、メタノールによる発現の誘導、及

び高密度培養が可能であるという利点がある。

筆者らは、フィターゼ遺伝子 (*phyA-wt*) 配列、及び分泌能の高いシグナル配列である  $\alpha$ -Factor ( $\alpha$ -signal) 配列のコドンをも *P. pastoris* に対して適正化し、さらに  $\alpha$ -Factor に関しては配列の一部に改良を加え、それぞれ *phyA-sh* 及び MF4I-signal を作製した。それらを用い、pphyWWT (*phyA-wt* +  $\alpha$ -signal), pphyWSH (*phyA-sh* +  $\alpha$ -signal), pphyMWT (*phyA-wt* + MF4I signal), pphyMSH (*phyA-sh* + MF4I signal) の4種のプラスミドを構築し、*P. pastoris* へ形質転換した。これら4種に対し、それぞれ最も活性の高いコロニーを選抜し、ジャーファメンターを用いた高密度培養を行った結果、pphyWWT 0.42g/l, pphyWSH 0.90g/l, pphyMWT 3.15g/l, pphyMSH 6.1g/l のフィターゼが得られた。つまりフィターゼ遺伝子のコドン適正化によりフィターゼ収量は2.1倍、シグナル配列の改良により7.5倍、どちらも行うことにより14.5倍にまで増加させることができた。これは商業生産にも十分用いられるレベルである。

コドン最適化やシグナル配列を取り替えることは比較的容易に行えるため、今回高発現を行ったフィターゼに限らず、今後様々な分泌型タンパク質の高生産に用いられることが期待される。

(抄訳：和田純平, WADA Junpei, 広島大学 大学院生物圏科学研究科)

## 編集後記

第112号をお届けします。本号の総説では、佐々木義之氏（京都大学）に家畜ゲノムとその応用研究の最前線についてご紹介戴きました。また、総説に関連した研究情報として（本号から「総説関連情報」というカテゴリーを設けて他の国内情報と区分することとしました。）、国枝哲夫氏（岡山大学）に家畜遺伝性疾患に関するゲノム解析について、粟田崇氏（（独）農業生物資源研究所）にブタゲノムとその応用研究についてご執筆戴きました。

その他の国内情報として、大沼昭夫氏（（財）大日本蚕糸会）らに卵から雄のみがふ化する蚕品種について、染谷慎一氏（東京大学）らにミトコンドリアDNA変異とアポトーシスの老化機構への関与について、榊原均氏（（独）理化学研究所）らに細菌遺伝子産物の色素体移行と代謝バイパス形成について、村田仁氏（（独）森林総合研究所）らにマツタケ・シロにおける遺伝的なモザイク現象について、青木循氏（生研センター）にねぎ収穫機について、それぞれご紹介戴きました。また、本号の文献情報は、下司雅也氏（畜産草地研究所）、和田純平氏（広島大学）にご執筆戴きました。

ご多忙な中玉稿をお寄せ頂きました執筆者各位に深甚の謝意を申し上げます。 （渡辺記）

## 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支援センター（生研センター）の許諾を得て行って下さい。

## ブレインテクノニュース 第112号

平成17年11月15日発行

発行人 朝比奈 清

編集人 吉臭 努

発行所 独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構

©生物系特定産業技術研究支援センター（生研センター）

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

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

e-mail brainki1@ml.affrc.go.jp URL <http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/>

印刷・製本 日本印刷株式会社 〒101-0021 東京都千代田区外神田6-3-3 TEL 03-3833-6971