

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

平成19年 9月15日発行 (隔月1回15日発行)

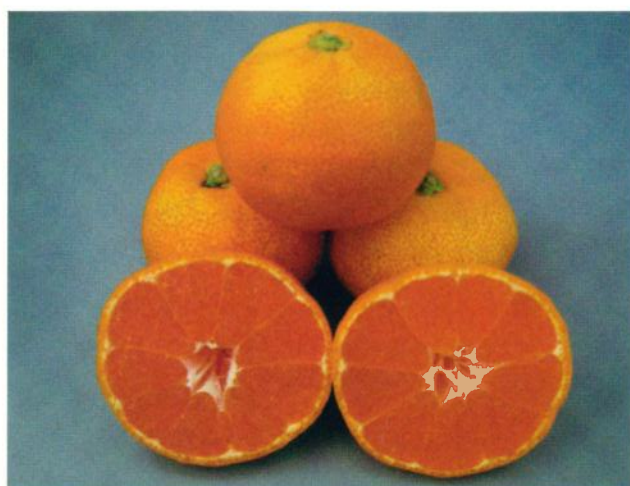
ISSN 1345-5958

TECHNO NEWS

No.123

15 SEPTEMBER, 2007

ブレインテクノニュース



β-クリプトキサンチンを多量に含む
ウンシュウミカン

S. lividans



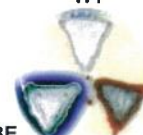
TK21(WT)



TK24(K88E)

S. coelicolor

WT



K88E

K43N

S. coelicolor

wt



gen



fus



tsp



放線菌における休眠遺伝子の活性化

特集：最近のβ-クリプト
キサンチン研究の動向

(独) 農業・食品産業技術
総合研究機構 果樹研究所
生 駒 吉 識
杉 浦 実

国内情報：微生物の「休眠
遺伝子」を活性化し抗生物質
などを作り出す技術を開発

(独) 農業・食品産業技術総合
研究機構 食品総合研究所
越 智 幸 三

目 次

特 集 最近の β -クリプトキサンチン研究の動向

- 1 ウンシュウミカンで特異的に β -クリプトキサンチンが多量に集積する生合成調節機構 … 1
生駒 吉識 ((独) 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所)
- 2 β -クリプトキサンチンの多様な生理機能 — 疫学研究から明らかになったこと …… 6
杉浦 実 ((独) 農業・食品産業技術総合研究機構 果樹研究所)

国内情報

- イネの花成ホルモン Hd3a …… 11
玉置 祥二郎・島本 功 (奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科)
- 微生物の「休眠遺伝子」を活性化し抗生物質などを作り出す技術を開発 …… 15
越智 幸三 ((独) 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所)
- 鳥とヒトのインフルエンザワクチン株ライブラリー …… 21
喜田 宏 (北海道大学 大学院獣医学研究科, 人獣共通感染症リサーチセンター)
- カイコが黄色の繭を作るメカニズム — カロチノイドの選択的輸送機構の解明 …… 26
土田 耕三¹・作道 隆¹・中島 健陽¹・藤本 浩文¹・高田 直子¹・片岡 宏誌²・
瀬筒 秀樹³・田村 俊樹³ (¹国立感染症研究所, ²東京大学, ³農業生物資源研究所)
- 乗用型水田用除草機を利用した水田内複合除草技術の開発 …… 31
宮原 佳彦 ((独) 農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター)

地域の先端研究

- デジタルビデオ録画像の利用により牛超音波肉質診断の脂肪交雑推定精度の向上を図る …… 36
川田 智弘 (栃木県畜産試験場 畜産技術部)

文献情報

- 泌乳牛への脂肪酸給与が卵子の品質や胚発生に及ぼす影響 …… 41
A.A. Fouladi-Nashta et al. (*Biology of Reproduction*, 77, 9-17, 2007) 抄訳: 下司 雅也
ブラシノステロイドのシグナル伝達で働くBAK1は, フラジェリンによる誘導でFLS2と複合体を
形成し, 植物の防御反応を開始する …… 42
D. Chinchilla et al. (*Nature*, Vol.448, 497-501, 26 July, 2007) 抄訳: 久保山 勉
- HIV-1抗ウイルス薬Cyanovirinを分泌する乳酸菌について …… 43
O. Pusch et al. (*J Acquir Immune Defic Syndr*. 15; 40(5): 512-20, Dec., 2005)
抄訳: 芦田 延久
- イガイとヤモリにヒントを得た着脱可能な水中接着因子 …… 44
H. Lee et al. (*Nature*; 448, 338-341, 2007) 抄訳: 足立 亨介
- 生研センターからのご案内 (平成19年度 生研センターUR対策現地検討会) …… 45

表紙の説明

(左図) β -クリプトキサンチンがウンシュウミカンで多量に集積する機構が解明された。さらに, 最近の栄養疫学的研究により, β -クリプトキサンチンの様々な生理機能が明らかになりつつある。

(右図) 微生物の休眠遺伝子は, リボゾームの変異や, 微量の希土類元素の添加によって目覚めさせることが出来る。写真はリボゾーム変異によって放線菌の抗生物質(青色素)の生産遺伝子が目覚めたものである。

詳細については, それぞれ1頁, 6頁, 及び15頁をご覧ください。

◀特集▶最近の β -クリプトキサンチン研究の動向1

ウンシュウミカンで特異的に β -クリプトキサンチンが多量に集積する生合成調節機構

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

果樹研究所 健康機能性研究チーム

生 駒 吉 識

ウンシュウミカンとオレンジ果実におけるカロテノイド生合成遺伝子の発現解析を行った。その結果、ウンシュウミカンにおける β -クリプトキサンチンの特異的な集積は、 β -リングヒドロキシラーゼ遺伝子の発現が低くなる等のカロテノイド生成が β -クリプトキサンチンで止まりやすい遺伝子発現バランスになる機構と、ピオラキサンチン（カンキツ類に含有される主要なカロテノイドの1種）を分解する酵素遺伝子の発現が高くなる機構が関与することを明らかにした。

1. はじめに

カロテノイドは、8個のイソプレノイド単位からなるテトラテルペノイドが骨格となり、その骨格中の2重結合の数、水酸基等の官能基の導入等の違いにより、多くの種類に分類される。カロテノイドは黄～赤色の色素成分として古くから知られており、例えば、トマト果実の赤色の色素はリコペンと呼ばれるカロテノイドの一種である。カンキツの果皮や果肉のオレンジ色もカロテノイドに由来する。また、一部のカロテノイドには、ビタミンAとしての効力を有するものがあり、栄養成分としても重要な成分の1つと位置づけられている。近年、これらの機能のほかに、生活習慣病予防にも有効とする研究結果が得られるようになって、健康の維持・増進という観点から注目されるようになってきた。カンキツには、発がんや骨粗鬆症予防の観点から研究が進んでいる β -クリプトキサンチンというカロテノイドの含有量が高い品種（ウンシュウミカン等）が存在することが知られている¹⁾。

ここでは、 β -クリプトキサンチンの集積量の多いウンシュウミカンとそれと異なるカロテノイドのピオラキサンチンの集積量の多いオレ

IKOMA Yoshinori

〒424-0292 静岡市清水区興津中町485-6

ンジを用いて、カロテノイド生合成に関連する酵素遺伝子の発現レベルを比較した結果から、 β -クリプトキサンチンがウンシュウミカンで多量に集積する機構を明らかにした研究を紹介する。

2. 成熟時の遺伝子発現の一斉上昇による生合成調節

植物体内では、 β -クリプトキサンチン等のカロテノイドは、図1のように生合成される¹⁾。カンキツの果皮や果肉では、成熟にともなって急激に β 、 β -カロテノイド（ここでは、図1の β -カロテン以降のカロテノイドをさす）の集積が認められるようになる^{2), 3)}。この時点の遺伝子発現を解析すると、生合成経路の分岐に関連するリコペン- β -サイクラーゼのほかに、それよりも上流に位置する酵素（フィトエンシンターゼ、フィトエンデサチュラーゼ、 ζ -カロテンデサチュラーゼ）やそれより下流に位置する酵素（ β -リングヒドロキシラーゼ、ゼアキサンチンエポキシダーゼ）の遺伝子群の発現が、全て一斉に高くなる現象が観察された³⁾。このような遺伝子発現の一斉上昇は、この時期に β 、 β -カロテノイドが急増するという、カロテノイド生合成の量的変化に直接的に関与する重要な生合成調節機構であると考え

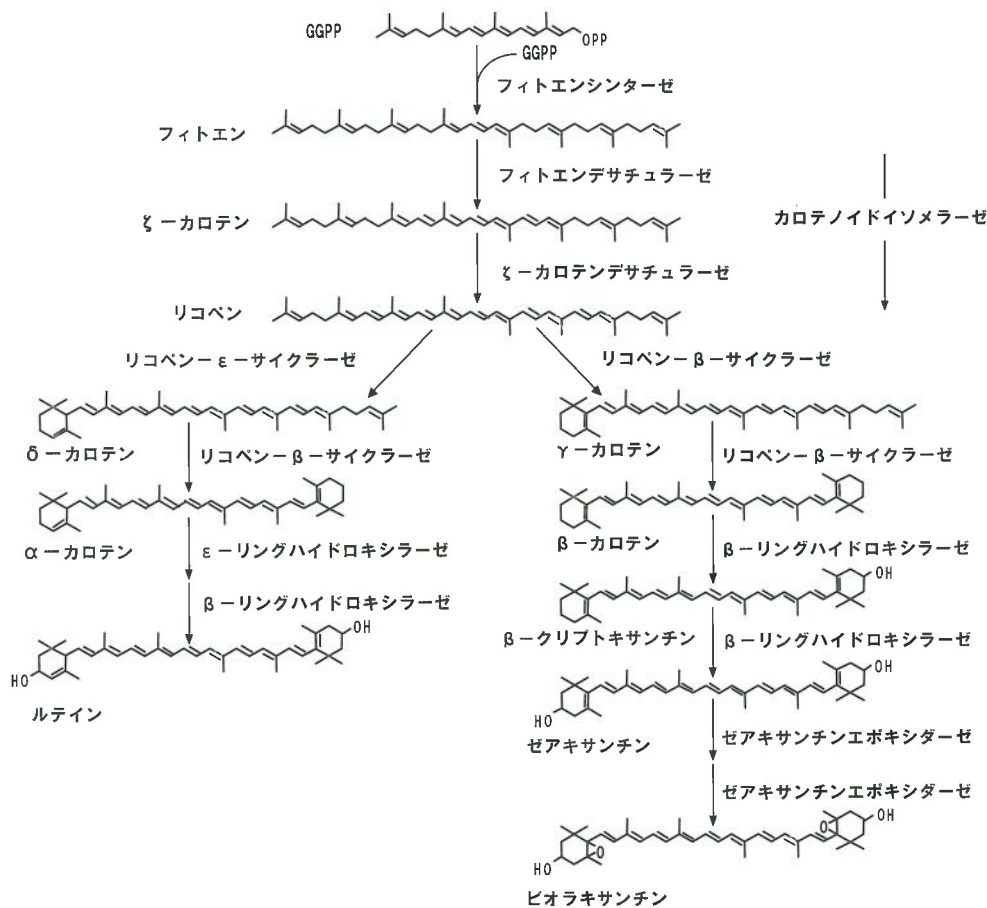


図1 カロテノイド生合成経路
GGPP：ゲラニルゲラニルピロリン酸

られる。

3. β-クリプトキサンチンの特異的集積に関連する生合成調節機構

遺伝子発現の一斉上昇という調節機構は、着色期の急激なβ, β-カロテノイドの集積に関する理由については説明できるが、ウンシュウミカン果肉で見られるようなβ-クリプトキサンチンが特異的に集積する現象については説明できない。β-クリプトキサンチンが特異的に集積する機構には、β-クリプトキサンチンを生成するキー酵素のβ-リングハイドロキシラーゼが関連していると考えられる。β-リングハイドロキシラーゼは、β-カロテンを基質とし、β-カロテンの片方のβ環に水酸基を1個付加して、β-クリプトキサンチンを生成する

反応（第1段階目の反応）だけでなく、生成されたβ-クリプトキサンチンを基質とし、もう一方のβ環に2個目の水酸基を付加して、ゼアキサンチンを生成する反応（第2段階目の反応）も進める（図1）。実際に、試験管内や大腸菌内でβ-カロテンを基質にして、β-リングハイドロキシラーゼを作用させると、当該酵素反応の最終産物であるゼアキサンチンが主な産物として集積し、当該酵素反応の中間産物であるβ-クリプトキサンチンの集積は少ない^{4), 5), 6)}。一方、大腸菌内で同様の実験を行った場合に、中間産物であるβ-クリプトキサンチンが最終産物のゼアキサンチンよりも多量に集積する場合もあることが報告されており、その原因については、β-リングハイドロキシラーゼの第1段階目の反応（β-カロテンからβ-クリプトキサンチンを生成）の効率が、第2段階目の反

応（β-クリプトキサンチンからゼアキサンチンを生成）の効率よりも高いため、β-クリプトキサンチンの集積が多くなったと考察されている⁵⁾。このようなβ-リングヒドロキシラーゼの反応効率の差から、Katoら³⁾は、β-カロテンが過剰な場合や、β-カロテンに対してβ-リングヒドロキシラーゼが過少な場合には、β-カロテンを継続的に基質として利用できるため、反応効率の高い第1段階目の反応が優先的に進行し、β-クリプトキサンチンが集積すると推察している。

カンキツでは、β-クリプトキサンチンを急速に集積しているウンシュウミカン果肉と、ビオラキサンチンを急速に集積しているバレンシ

アオレンジ果肉を用いて、カロテノイド生合成系の遺伝子発現の品種間差が解析され、その結果から、果肉のβ-カロテンやβ-リングヒドロキシラーゼの生成量が推定されている³⁾。図2のとおり、ウンシュウミカン果肉では、バレンシアオレンジ果肉に比べて、β-カロテンを生合成する遺伝子群の発現が高くなること、逆に、β-リングヒドロキシラーゼ遺伝子の発現が低くなることが明確に示された。すなわち、ウンシュウミカンでは、バレンシアオレンジに比べて、β-カロテンの生成が多く、β-リングヒドロキシラーゼの発現が低い条件下となること示唆した。このような条件下になると、前述のとおり、β-カロテンを継続的に基

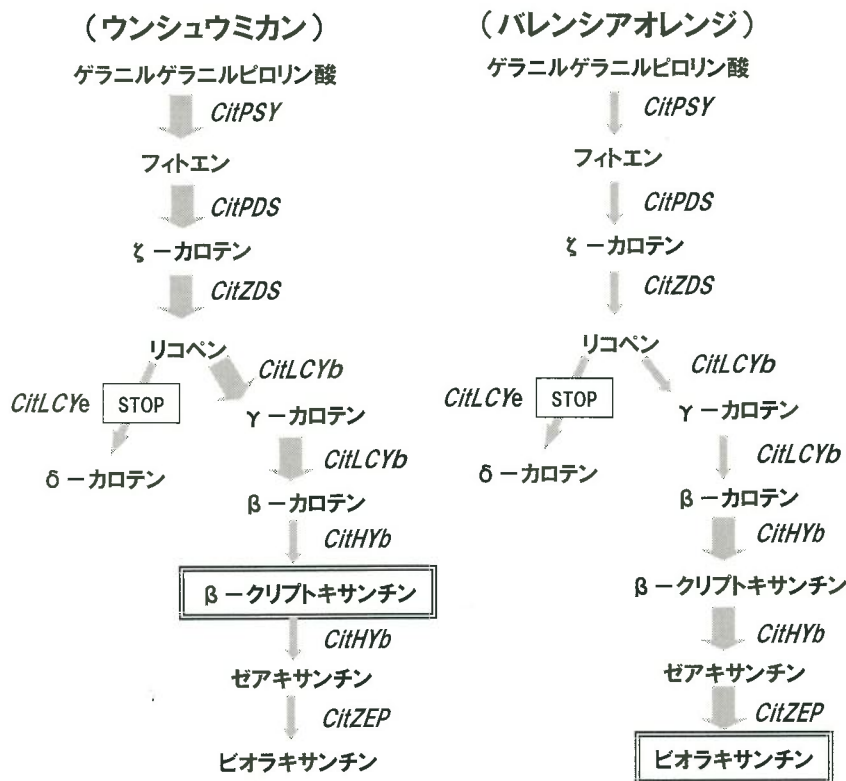


図2 急激なカロテノイド蓄積期におけるカロテノイド生合成に関与する遺伝子発現の品種間差（果肉での結果）

CitPSY: フィトエンシターゼ, CitPDS: フィトエンデサチュラーゼ,
 CitZDS: ζ-カロテンデサチュラーゼ, CitLCYb: リコペン-β-サイクラーゼ,
 CitLCYe: リコペン-ε-サイクラーゼ, CitHYb: β-リングヒドロキシラーゼ,
 CitZEP: ゼアキサンチンエポキシダーゼ

注1) 各遺伝子の発現は、太い矢印の品種において高いことを示す。

注2) STOPは、遺伝子発現を検出出来なかったことを示す。

質として利用できるため、反応効率の高い第1段階目の反応が優先的に進行し、β-クリプトキサンチンが集積したと考察されている³⁾。一方、バレンシアオレンジでは、β-カロテンの生成に関わる遺伝子群の発現が低かったこと、β-リングヒドロキシラーゼ遺伝子の発現が高かったことから、ウンシュウミカンよりもβ-カロテンの生成が少なく、β-リングヒドロキシラーゼの発現が高い条件下となることが示唆された³⁾。このような条件下では、基質となるβ-カロテンは消費しやすくなるため、反応効率は低いβ-クリプトキサンチンを基質として利用する第2段階目の反応が優先されるようになり、ゼアキサンチンが集積したと考察されている。さらに、オレンジでは、ゼアキサンチンエポキシダーゼ遺伝子の発現も高かったことから、生成されたゼアキサンチンは、ビオラキサンチンに代謝されたと考察されている³⁾。このように、β-クリプトキサンチンが特異的に集積するのに重要な調節機構として、基質となるβ-カロテンの生合成遺伝子群とβ-リングヒドロキシラーゼ遺伝子の間の発現バ

ランスが関与していると考えられる。

4. β-クリプトキサンチンの特異的集積に関与するカロテノイド分解機構

上記のとおり、ウンシュウミカン果肉では、カロテノイド生成がβ-クリプトキサンチンを集積しやすい遺伝子発現バランスになっており、オレンジ果肉では、β-クリプトキサンチンを集積しにくく、さらに代謝が進んだビオラキサンチンが集積しやすい遺伝子発現バランスになっている。しかし、カロテノイドの集積量は、生成されたカロテノイドの分解過程も明らかにしないと十分に説明できない。このため、図3のようにビオラキサンチンを分解してアブシジン酸(ABA)生成を進める酵素であるNCED(9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase)に着目し、カロテノイドの分解過程がカロテノイド集積量に及ぼす影響を解析した⁷⁾。

その結果、カンキツから単離したNCEDをコードする遺伝子の1種の*CitNCED2*の発現が、ウンシュウミカンでは成熟に伴って急増し、こ

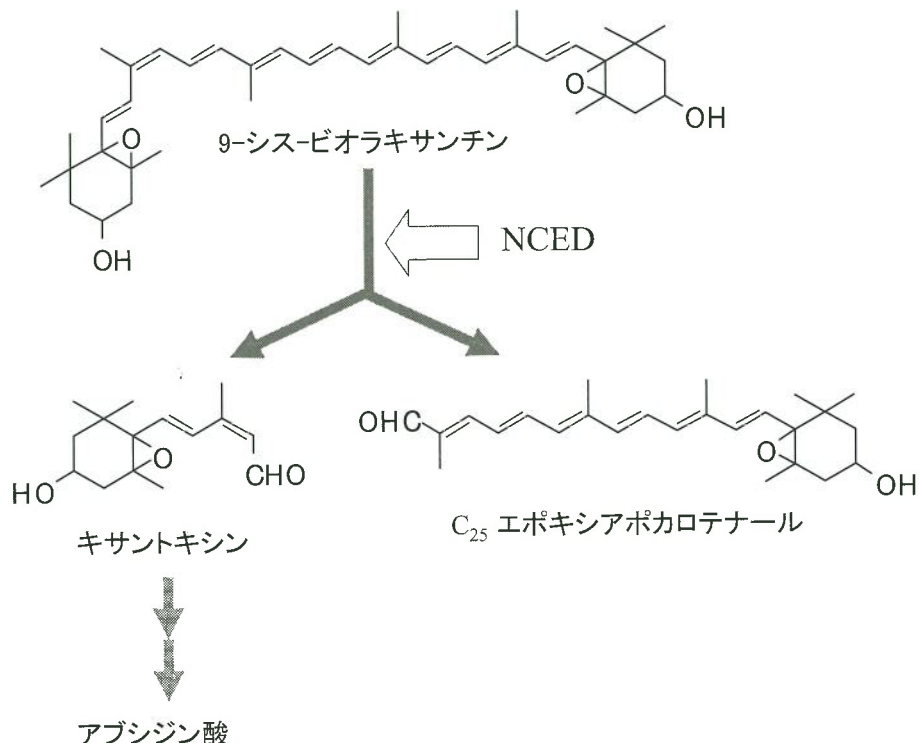


図3 ビオラキサンチンのNCED (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase) による分解過程

れにともなって、果肉中のABA含量が増加することが明らかとなった。一方、オレンジでは成熟期間中に*CitNCED2*の発現の上昇は認められず、ABA含量は低いレベルで推移することが明らかとなった。すなわち、オレンジでは、*CitNCED2*の発現が低いためピオラキサンチンの分解が進まず、ピオラキサンチンの集積量が増大し、逆にABA集積量が低く推移すると考えられた。一方、ウンシュウミカンでは、成熟期に*CitNCED2*の発現が高くなるためピオラキサンチンの分解が進み、ピオラキサンチンの集積量が低く推移し、逆にABA集積量が増大すると考えられた。このように、ウンシュウミカンにおける高いNCEDの発現は、生成されたピオラキサンチンを急速に分解し、ウンシュウミカンにおける β -クリプトキサンチンの集積の特異性を一層明瞭にする一因となっている。

5. おわりに

これらの結果は、「ウンシュウミカン果肉における特異的な β -クリプトキサンチンの集積には、カロテノイド生成が β -クリプトキサンチンで止まりやすいという機構だけでなく、ピ

オラキサンチンまで代謝が進んでも容易にABAに分解されるという機構も関与する」という情報を提供するものであり、 β -クリプトキサンチンの高含有化やカロテノイド組成の改変のための今後の技術開発の参考になると期待される。

文 献

- 1) 矢野昌充ら (2005), 果樹研究所研究報告, 4, 13-18
- 2) Ikoma, Y. et al. (2001), *Physiol. Plant.*, 111, 232-238
- 3) Kato, M. et al. (2004), *Plant Physiol.*, 134, 824-837
- 4) Hundle, B. et al. (1993), *FEBS Lett.*, 315, 329-334
- 5) Sun, Z. et al. (1996), *J. Biol. Chem.*, 271, 24349-24352
- 6) Bouvier, F. et al. (1998), *Biochim. Biophys. Acta*, 1391, 320-328
- 7) Kato, M. et al. (2006) *J. Experimental Botany* 57, 2153-2164

◀特集▶ 最近の β -クリプトキサンチン研究の動向 2

β -クリプトキサンチンの多様な生理機能 — 疫学研究から明らかになったこと

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
果樹研究所 健康機能性研究チーム
杉 浦 実

β -クリプトキサンチンは、ウンシュウミカンに特徴的に含まれるカロテノイド色素である。近年、欧米の疫学研究から、肺がんに対する予防効果など新たな生理機能が明らかになりつつある。しかしながら、ミカンを食べる習慣を有さない欧米人の β -クリプトキサンチン摂取量は、日本人に比べて極めて微量である。我々は β -クリプトキサンチンの新たな機能解明を目的に国内主要ミカン産地の住民を対象に栄養疫学研究（三ヶ日町研究）を開始した。

1. はじめに

国内主要果実であるウンシュウミカン（以下ミカン）にはビタミン、ミネラル、食物繊維等の重要な栄養素以外にも、近年その生理機能が注目されているヘスペリジンや β -クリプトキサンチン等の機能性成分が豊富に含有されている。欧米を中心とする栄養疫学研究から、果物の摂取は野菜と同じくらいにがんや心臓病などの生活習慣病の予防に有効であることが明らかにされてきた。しかしながら日本人を対象とした栄養疫学的なエビデンスは極めて少ないのが現状である。一方、これまでに果樹研究所では、六千名余りの一般消費者を対象にした自記式アンケート調査から、ミカンを高頻度に摂取している人達には糖尿病、高血圧、心臓病等の生活習慣病の有病率が有意に低いことを見出してきた。そこで我々はミカンの健康効果をヒトレベルでより詳細に検討するため、国内有数のミカン産地住民を対象にした栄養疫学研究（三ヶ日町研究）を平成15年度より開始した。本稿では海外における β -クリプトキサンチンの研究動向と三ヶ日町研究から明らかになったことについて紹介したい。

2. 欧米の疫学研究から明らかになりつつある β -クリプトキサンチンの生理機能

β -クリプトキサンチンはミカンに特徴的に多く含まれているカロテノイド色素の一つであり、これまでに我々は血清中の β -クリプトキサンチンレベルがミカンの摂取量を極めて良く反映するバイオマーカーであることを見出している^{2, 3)}。一方、欧米人にとって最大の β -クリプトキサンチン供給源はオレンジであるが、ミカンほど多く含まれていないためにその摂取量は日本人に比べて微量である。ところが近年の欧米における大規模な栄養疫学研究から、それまでカロテノイドの中ではむしろマイナーな成分であった β -クリプトキサンチンが一躍注目を集めるようになってきた。それはカロテノイド類の中でも β -クリプトキサンチンが際立って、ある種のがんやリウマチ、糖尿病等の発症リスク低減効果が報告されるようになってきたからである。

近年、最も報告例の多いのが肺がんリスクとの関連についての報告で、多くの研究において β -クリプトキサンチンが肺がんのリスクを下げるのではないかと結論づけている。また胃・食道がんに関しては、およそ半数の論文でリスクを低減したと報告している。その他、比較的

SUGIURA Minoru

〒424-0292 静岡市清水区興津中町485-6

報告数の多いものとしては、前立腺がん、乳がんで、どちらのがんにおいても関連有りとする論文がおよそ半数であった。また子宮がんとの関連では近年報告されている論文では何れもリスク低下と関連有りとしている。一方、直腸がんでは全ての論文で関連は認められていない。カロテノイドに着目した発がんリスクとの関連を検討した報告はまだ多くないが、現在のところ、肺がんに対するβ-クリプトキサンチンの予防効果の可能性は特に大きいと考えられる。

また近年、糖尿病リスクとの関連について検討され、カロテノイド類に糖尿病リスク低減効果が期待されている。特に興味深い報告として、フィンランドで行われた4,304名を23年間追跡調査した抗酸化物質の摂取量と糖尿病罹病との関連について調査した結果がある。この研究では糖尿病罹病のリスクを有意に低減していたのはカロテノイドではβ-クリプトキサンチンのみであったと報告している。その他にも、関節炎やリウマチリスクとの関連についての報告もあり、何れの報告においてもβ-クリプトキサンチンに有意なリスク低減が認められている。特に米国の約3万人を9年間追跡調査した結果では、β-クリプトキサンチンだけにリウマチの発症リスク低減が認められたと報告している。

このようにβ-クリプトキサンチンと様々な疾患との関連についての疫学研究が多く報告されるようになってきたが、これらは何れも我々が調査の対象としている集団に比べて、その摂取量が少なく血中濃度が低い集団での調査といえる。そのため、日本人のようにミカンを食べる習慣を有する地域で疫学調査を行えば、β-クリプトキサンチンの効果をより精度良く検出できることが期待される。

3. ミカンの摂取と健康に関する栄養疫学調査－三ヶ日町研究

血清中のβ-クリプトキサンチン濃度を測定することでミカンの摂取量を客観的に評価出来

ることを確認した我々は、ミカンの健康機能性をより詳細に解析するために、平成15年度より静岡県引佐郡三ヶ日町(現浜松市北区三ヶ日町)の住民約1,000人を対象とした栄養疫学研究(三ヶ日町研究)を開始した。この調査は住民福祉課が毎年実施している住民基本健診と連携して行い、ミカンの摂取量の他、栄養摂取状況・生活習慣・基本健診データなどを総合的に評価し、血清β-クリプトキサンチンと様々な健康指標との関連を解析することで、ミカンがどのような健康機能性を有するかを明らかにすることを目的としている。

3-1. ミカンをよく食べる人は肝疾患のリスクが低い

近年の臨床研究から肝臓病患者の血清中抗酸化物質の量が健常者よりも低下していることから、肝臓病に酸化ストレスが関わっていると多くの知見が得られ、果物・野菜を日頃から豊富に摂取することが正常な肝機能維持のために有効ではないかと考えられてきた。しかしながら、疫学研究レベルで検討した報告は極めて少なかった。そこで我々はβ-クリプトキサンチンの血中レベルと肝機能との関連について検討した。

基本健診などの血液検査では肝機能の指標値として、ALT(アラニンアミノ基転移酵素)・AST(アスパラギン酸アミノ基転移酵素)・γ-GTP(ガンマグルタミン酸アミノ基転移酵素)の3種類がよく測定される。何れもアミノ酸代謝に働く重要な酵素で、ALTは肝臓に最も多く、ASTは心筋・肝臓・骨格筋・腎臓等に多く存在する酵素で、これらの組織が障害を受けると酵素が逸脱し血中に漏出してくるとともに検査値が高くなる。またγ-GTPは肝臓-胆道系に分布し、アルコール摂取などで敏感に高くなるが多いため、アルコール性肝障害の指標として用いられている。まずアルコール摂取によるγ-GTPの上昇と血清中β-クリプトキサンチンレベルとの関連を調べた。その結果、血中γ-GTP値は一日当たりのエタノ

ール摂取量が多いほどその数値は高くなるが、毎日25g以上のエタノール（瓶ビール大一本以上）を摂取していても、血中 β -クリプトキサンチンレベルが高いグループでは γ -GTP値がかなり低いことが解った⁴⁾（図1）。アルコールは肝臓で代謝されるが、その代謝過程において過剰なフリーラジカル（活性酸素種）が発生し、これが肝機能障害の原因の一つとも考えられている。 β -クリプトキサンチンはアルコール性肝障害に対して防御的に働いているのではないかと考えられる。

一方、肝機能障害は糖尿病のリスクファクターの一つであることが近年明らかになっているが、逆に糖尿病が肝機能を低下させることも考えられる。即ち、糖尿病のような高血糖状態では通常よりも酸化ストレスが増大していることが近年の研究から明らかになっており、この酸化ストレスが肝細胞に障害を与えることが考えられる。我々は耐糖能別に血中のALT値とAST値を比較検討した。空腹時血糖値とHbA_{1c}値から被験者を糖尿病群・糖尿病予備群・正常群に分け、ALTとAST値を比較すると、高血糖群ほどこれらの数値が高く、肝機能が低下していることが確認できた。ところが高血糖であ

っても血中の β -クリプトキサンチンレベルが高いグループではこれらの数値が正常群とほぼ変わらないレベルであることが解った⁵⁾（図2）。

今回の調査は、肝炎ウイルスや肝疾患を有する人はデータから除外しているため、 β -クリプトキサンチンは初期段階での肝臓機能低下に対して有効である可能性が考えられる。 β -クリプトキサンチンが豊富に含まれるミカン（ミカン）は肝臓を健康に保つために重要な食品かもしれない。

3-2. ミカンをよく食べる人は動脈硬化のリスクが低い

さらに動脈硬化との関連についても興味深い結果が得られた。動脈硬化は加齢とともに進行するが、食事や喫煙、飲酒などの生活習慣の違いによって影響されることがわかっており、また、高血圧、高脂血症、糖尿病、肥満などの疾病も動脈硬化の促進要因とされている。動脈硬化が進んだり、動脈の内径がせまくなったりすると脈の伝わり方は早くなるが、この原理を応用して動脈硬化度を脈波速度で詳細に評価することができる。今回、男女876名を対象に動脈硬

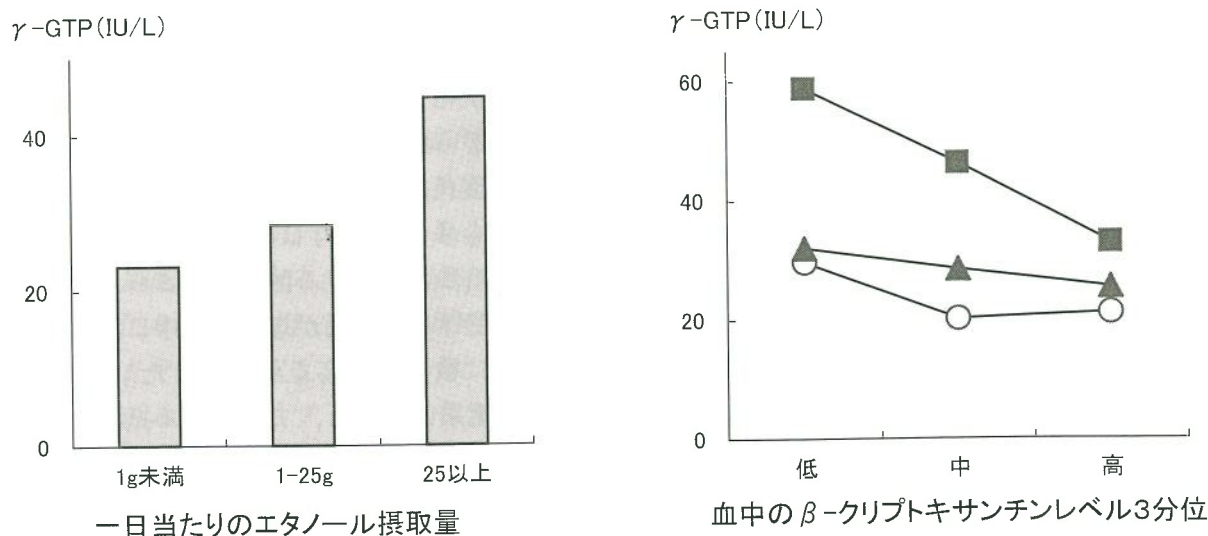


図1 一日あたりの飲酒量別にみた血中 γ -GTP値と β -クリプトキサンチンレベルとの関係

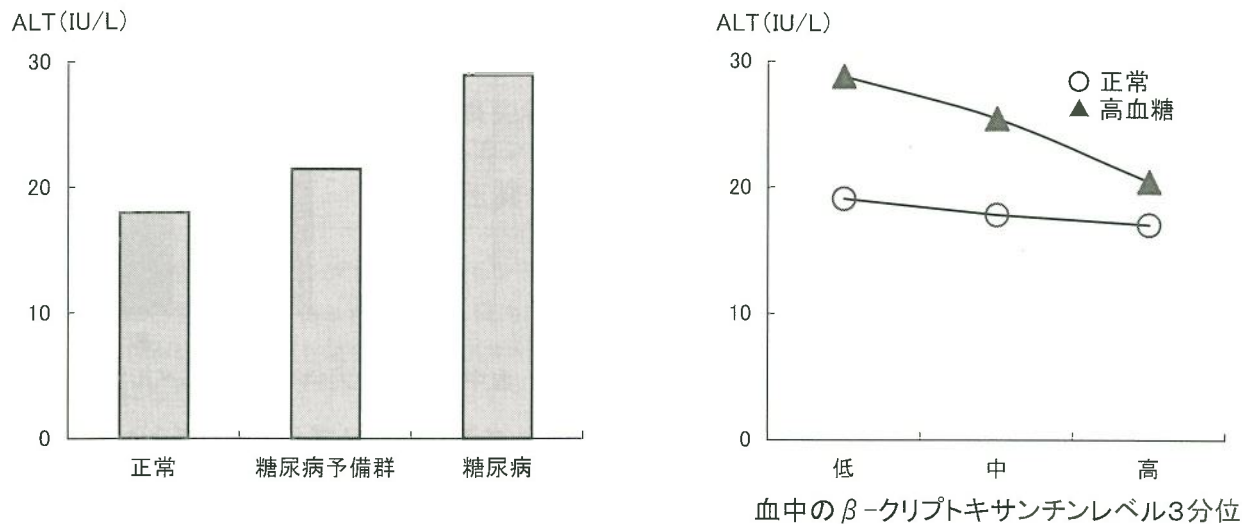


図2 空腹時の血糖値レベル別にみた血中ALT値とβ-クリプトキサンチンレベルとの関係

化の一指標である、上腕動脈－足首動脈間での脈波速度と血清中β-クリプトキサンチンレベルとの関連を解析した。その結果、血中のβ-クリプトキサンチンレベルが高い人達の中で動脈硬化が進行していると考えられる脈波速度の高い人（ ≥ 1680 cm/秒）のリスクは、血中のβ-クリプトキサンチンレベルが低い人達に比べて約1/2程度であることが解った⁶⁾（図3）。β-クリプトキサンチンを豊富に含むミカンの摂取は動脈硬化の予防に有効である可能性が今回の調査結果から示唆された。

3-3. ミカンをよく食べる人はインスリン抵抗性のリスクが低い

インスリン抵抗性とは簡単に言うと、インスリンの効き具合が悪い状態を意味する。すなわち同じだけ血糖を下げるのに必要なインスリン量が多い場合があり、この時、インスリン抵抗性が高い（インスリン感受性が悪い）と表現する。このインスリン抵抗性はインスリン分泌低下と共に、糖尿病の発症や状態に大きく関わっており、特にインスリン非依存型糖尿病（2型糖尿病）患者で重要な病態である。現在糖尿病でなくてもインスリン抵抗性が高い人ではそうでない人に比べて糖尿病に罹る率が高くなるこ

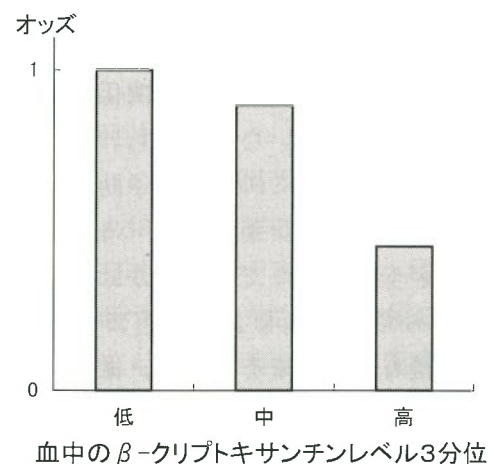


図3 血清β-クリプトキサンチンレベル別にみた脈波速度高値（ ≥ 1680 cm/秒）出現のオッズ比

とが近年の疫学研究から明らかとなっており、またインスリンの過剰な分泌は血圧の上昇や脂質代謝の異常も引き起こし、動脈硬化を引き起こす原因にもなる。今回、我々はインスリン抵抗性を空腹時血糖値とインスリン値から次式で算出した。

$$\text{HOMA指数} = \frac{\text{空腹時血糖値 (mg/dL)} \times \text{インスリン値 (mU/L)} \div 405$$

血中のインスリン値そのものでもインスリン抵抗性を判断する一つの目安となるが、インス

リン抵抗性から糖尿病に進行した人では、むしろインスリン値が低くなる。そのため我々は調査した時点で糖尿病と考えられる人（空腹時血糖値が126mg/dL以上）あるいは糖尿病歴を有する人を除外して解析した。その結果、血清中β-クリプトキサンチンレベルが高い人達の中で、インスリン抵抗性が高いと考えられる高HOMA（3以上）のリスクは、血清中β-クリプトキサンチンレベルが低い人達に比べて約1/2程度であることが解った⁷⁾（図4）。β-クリプトキサンチンを豊富含むミカンは糖尿病の発症予防に有効である可能性が示唆された。

4. より強固な因果関係を目指して

以上紹介した結果は三ヶ日町研究におけるベースラインデータを用いた横断解析から見出された知見である。これらの知見は結果と原因を同時に調査しているため、因果関係についてはまだ明らかに出来ていない。即ち、ミカンをよく食べることでこれらの疾患を予防出来ているのか、あるいはミカンをよく食べる人ほどこれらの疾患が少なかっただけなのかは明らかでない。これらの疑問点をより明確にするために我々は今後も追跡調査を実施し、確かにミカンをよく食べている人ほどこれらの病気に罹りにくいかを明らかにする予定である。ミカンが健康に良いという科学的根拠を確立し、国内の果実消費拡大、国民の健康増進に寄与出来るような研究にしたいと考えている。

5. 謝辞

本研究は、農林水産省委託プロジェクト「食

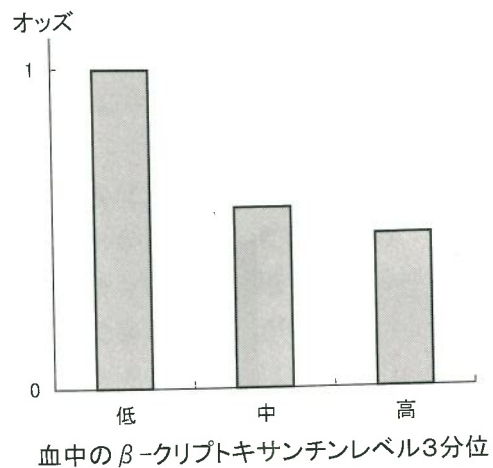


図4 血清β-クリプトキサンチンレベル別にみたHOMA-IR高値(≥3.0)出現のオッズ比

品の安全性及び機能性に関する総合研究」及び文部科学省科学研究補助金(No.15590544)の研究費を得て行いました。ここに深謝致します。

文献

- 1) Sugiura, M. et al. (2002) *J Health Sci* 48, 366-369
- 2) Sugiura, M. et al. (2002) *J Health Sci* 48, 350-353
- 3) Sugiura, M. et al. (2004) *J Nutr Sci Vitaminol* 50, 196-202
- 4) Sugiura, M. et al. (2005) *J Epidemiol* 15, 180-186
- 5) Sugiura, M. et al. (2006) *Diabetes Res and Clin Practice* 71, 82-91
- 6) Nakamura, M. et al. (2006) *Atherosclerosis* 184, 363-369
- 7) Sugiura, M. et al. (2006) *J Epidemiol* 16, 71-78

◀国内情報▶

イネの花成ホルモン Hd3a

奈良先端科学技術大学院大学
 バイオサイエンス研究科 植物分子遺伝学講座
 玉置 祥二郎・島本 功

植物の花成を誘導することができるホルモンとしてフロリゲンの存在が1930年代に提唱されて以来約70年にわたりその実体は不明のままであった。今回、我々はイネの開花促進遺伝子*Hd3a*がイネの花成にどのように関与しているかを明らかにする研究を通じて*Hd3a*がコードするタンパク質こそがフロリゲンの実体である可能性が高いことを明らかにした¹⁾。

1. はじめに

植物の多くは、一年のある時期に花を咲かせ実をつけることで子孫を残す。種子から発芽した植物の地上部は、ほぼすべてが茎の先端にある茎頂分裂組織と呼ばれる分裂組織に由来するものである。これまで葉を作っていた茎頂分裂組織が花芽を作る花芽分裂組織へ変化することを花成と呼ぶが、この花成がどのように誘導されるのかは古くから研究の対象となり、その仕組みの解明への努力が行われてきた。

植物が、一日の日の長さを感じし花成の誘導が行われていることが明らかとなったのは、1920年のことである²⁾。この発見は、後に植物も含め多くの生物で観察されることになる光周性反応の発見の第一歩となった。その後、日長に対する花成の応答性の違いから、一日の明期の長さがある一定以上の場合花成が誘導される長日植物と、一日の暗期の長さがある一定以上になると花成が誘導される短日植物に大別された。

植物の光周性花成反応が明らかとなったことで、次に植物がどこで日長を感じているかを明らかにするための研究が行われ、1930年代に植物が日長を感じる場が葉であることが示された。1936年にロシアの科学者Mkahl TAMAKI Shojiro, SHIMAMOTO Ko
 〒630-0101 奈良県生駒市高山町8916-5

Chailakhyanは短日植物のキクを用いて、植物が日長を感じる場が葉であることを示した³⁾。彼はこの結果から、日長を感じる場である葉から実際に花成の誘導が起きる場である茎頂へと花成を誘導する物質が移動していると考え、この物質のことを普遍的な花成ホルモン：フロリゲンと名付けた。

フロリゲンの存在が提唱されて以来、その実体解明のために多くの解析が行われてきた。フロリゲンの存在を支持する実験は、接木の手法を用いた実験である。光周性花成誘導処理を受けた植物の葉もしくは茎を光周性花成誘導処理を受けていない台木に接ぐと花成が誘導されることが、さまざまな植物を用いた実験の結果報告されている。多くの生理学的な解析の結果から、フロリゲンの性質および特徴は明らかとなっていたが、その実体は明らかとならなかった。

2. イネ開花促進遺伝子*Hd3a*

われわれの研究室ではこれまで、短日条件下で花成が誘導される短日植物であるイネの日長による花成の制御機構の解明に努めてきた。イネの光周性花成経路において機能する遺伝子は明らかとなっており、*OsGI*および*Hd1*, *Hd3a*が関与していることが知られている⁴⁾。短日条件下では*OsGI*→*Hd1*→*Hd3a*と順にシグナルが伝

わり発現が正に制御されることで、イネの花成が促進することが明らかとなっている。一方、長日条件下においては、短日条件とは逆に*Hd1*が*Hd3a*の発現を負に制御することで花成が抑制されることも明らかにされている⁴⁾。われわれは短日条件下におけるイネの花成において重要な役割を果たす開花促進遺伝子*Hd3a*の機能解析を行ってきた。*Hd3a*はイネの開花に関わる量的遺伝形質の一つとして特定され、コードするタンパク質はシロイヌナズナの花成において非常に重要な役割を果たす遺伝子である*FT*遺伝子と呼ばれる遺伝子がコードするタンパク質のアミノ酸配列と非常に高い相同性を示す。*Hd3a*は短日条件で特異的に高い発現を示し、その過剰発現体は早咲きの表現型を示すことが明らかとなっていた⁵⁾。しかしながら、*Hd3a*がイネの花成をどのように促進させているかは不明であった。そこでわれわれは*Hd3a*の遺伝子産物であるmRNAとタンパク質が花成の促進にどのように関与しているかを明らかにすることを目的とした解析を行った。

われわれは、まずイネの花成が誘導される条件である短日条件において*Hd3a* mRNAがイネのどの組織で発現しているかを詳細に解析した。その結果、*Hd3a* mRNAはイネの葉でのみ発現していることが明らかとなった。その他の組織、特に茎頂では*Hd3a* mRNAはほとんど検出されないことから、*Hd3a*はイネの葉で特異的に発現していると考えられた。次に、*Hd3a*が葉のどの部分で発現しているかを確認するために、*Hd3a*プロモーターに、*GUS*遺伝子をつなげたものをイネに導入した形質転換体を用いて*GUS*遺伝子の発現部位を確認したところ、*GUS*遺伝子は葉において維管束の師部周辺でのみ発現していることが明らかとなった。

イネにおける*Hd3a*の発現の特異性を確認したことから、次に*Hd3a*タンパク質がイネのどの組織、器官に存在し、どのような制御を受けているか解析することを試みた。*Hd3a*遺伝子のC末端側に*GFP*遺伝子をつなげ、これを*Hd3a*のプロモーターにつないだものを導入した形質

転換体を用い解析を行った。この植物体は、野生型に比べて、短日条件下でわずかに早い花成の促進が見られ、*Hd3a*タンパク質に*GFP*タンパク質をつなげた融合タンパク質が花成の促進に効果を持つことが確認できた。そこでこの植物体の茎頂分裂組織の縦断切片を作製し、レーザー蛍光顕微鏡で観察を行ったところ、*Hd3a*-*GFP*タンパク質の蛍光が、茎頂分裂組織において観察された。*Hd3a*のプロモーター領域は、維管束でのみ活性を持ち、茎頂分裂組織に維管束は存在しないことから、今回観察された蛍光タンパク質は維管束から運ばれたものであると考えられた(図1)。

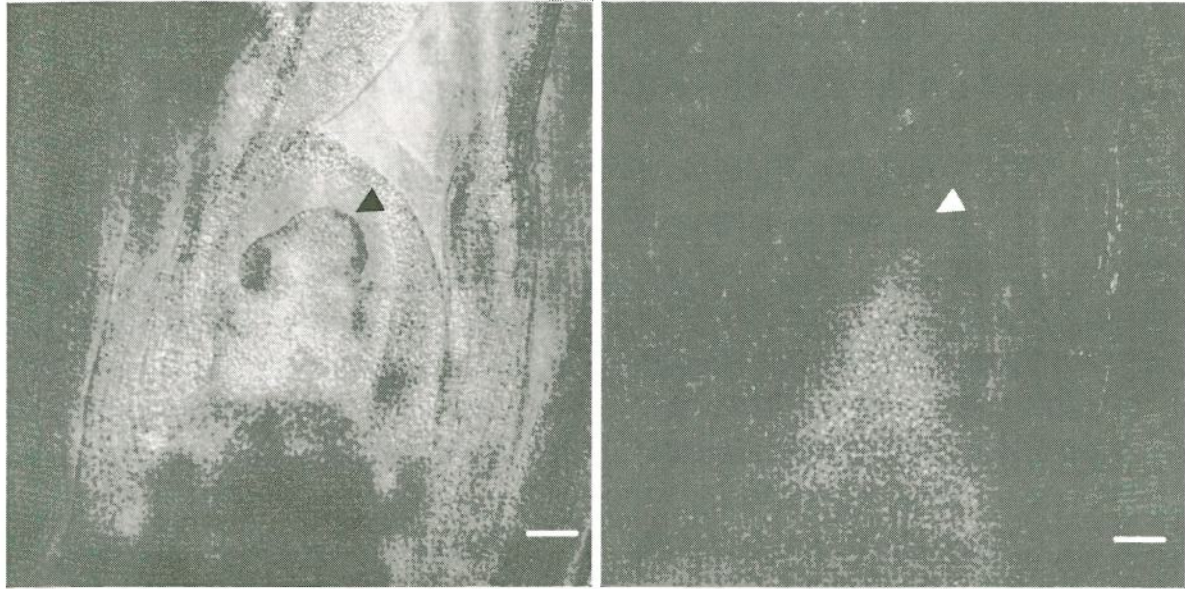
さらにわれわれは、この結果をより確実にするために、*Hd3a*とは異なる維管束でのみ機能を持つことが知られている2種類のプロモーター(*rolC*と*RPP16*)を用いて同様の解析を行った。その結果、これらの2種類のプロモーターを用いた場合でも、花成の促進が観察され、茎頂分裂組織の縦断切片を観察したところ、*Hd3a*-*GFP*タンパク質の蛍光が観察された。

これらの一連の解析結果から、イネにおいて*Hd3a*は短日条件に置かれたイネの葉で特異的に発現し、タンパク質へと翻訳された後、茎頂分裂組織まで運ばれることでイネの花成を促進していると考えられた(図2)¹⁾。さらに同時期に、ドイツのマックスプランク研究所のグループよりシロイヌナズナの*FT*遺伝子も*Hd3a*同様タンパク質としてシロイヌナズナの花成を促進していることを示す結果が報告された⁶⁾。

以上の結果をまとめると、イネおよびシロイヌナズナは、花成を誘導される条件におかれた場合、葉においてそれぞれ*Hd3a*/*FT*遺伝子の発現が誘導され、それがタンパク質へと翻訳され、師管を通じて茎頂分裂組織へと運ばれることにより、花成が誘導されているものと考えられる。

3. おわりに

70年以上にわたりその実体の解明へ多くの科



arrow head: 茎頂分裂組織
bar = 50 μm

図1 イネ茎頂分裂組織およびその周辺におけるHd3a : GFPの局在

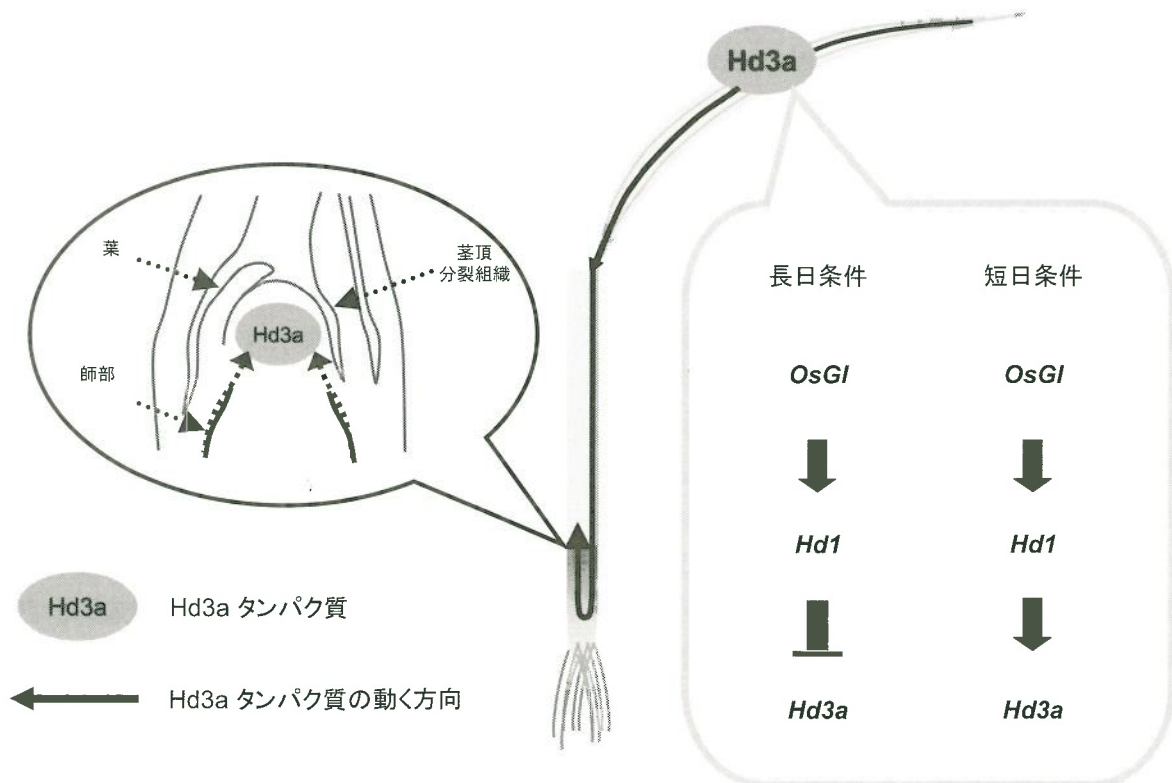


図2 イネのフロリゲン Hd3a遺伝子

学者たちの努力が払われてきた花成ホルモン：フロリゲンであるが、今回の一連の解析を通じてHd3a/FTタンパク質こそがフロリゲンの実体ではないかと考えられる結果が得られた。しかしながら、Hd3a/FTタンパク質が、茎頂分裂組織においてどのように機能し植物の花成を促進しているのか、葉から茎頂分裂組織への移動の機構といった重要な分子メカニズムには不明な点が多く残っている。また今回あげたHd3a/FTの機能は植物の花成促進の機能であるが、Hd3a/FTは花成以外の形態形成および生長相への影響を及ぼすことが報告されている。このことから、Hd3a/FTの植物における機能に関しては未知の部分がいまだに多くあり、今後より詳細な解析が必要である。

文 献

- 1) Tamaki, S. et al. (2007), *Science*, 316, 1033-1036
- 2) Garner, W. W., Allard, H. A. (1920), *J. Agric. Res.*, 18, 553-606
- 3) Chailakhyan, M.K. (1936), *C R Acad Sci URSS.*, 13, 79-83
- 4) Hayama, R. et al. (2003), *Nature*, 422, 719-722
- 5) Kojima, S. et al. (2002), *Plant Cell Physiol.*, 43, 1096-1105
- 6) Corbesier, L. et al. (2007), *Science*, 316, 1030-1033

◀国内情報▶

微生物の「休眠遺伝子」を活性化し
抗生物質などを作り出す技術を開発独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所
越 智 幸 三

生育に必須の一次代謝と異なり、抗生物質生産のような二次代謝は自然界の微生物では、しばしば眠った状態にあることが最近のゲノムプロジェクトの成果から判ってきた。従って、それらの「休眠遺伝子」を活性化して目覚めさせることができれば、新物質の発見につながるであろう。筆者らは、最近、いくつかの休眠遺伝子活性化技術を開発してきた。

1. はじめに

微生物から新物質を探索するには、世界中からできるだけ多様な遺伝資源を収集して、かつ培養にも工夫を凝らすというのが有力な方法である。しかし、最近のカクタヘナ議定書の発効などにより、外国からの遺伝資源獲得は益々難しくなっている。一方、ここ数年のゲノムプロジェクトの進歩により、微生物には眠ったままの遺伝子が想像以上に多くある事が判ってきた。生育に必須の一次代謝と異なり、二次代謝は生産菌自身にとって不可欠ではないため、長い進化の過程で二次代謝に関わる遺伝子が発現しない状態（つまり休眠状態）になったものと思われる。すなわち、休眠遺伝子は二次代謝遺伝子にしばしばみられ、微生物の中でもとりわけ放線菌で顕著である。二次代謝産物は抗生物質の例でも判るように、生理活性を有する事が多いので、典型的な一次代謝であるグルタミン酸酐酵や核酸酐酵と並んで、微生物利用の重要な部分を占める。このように「休眠遺伝子」の活性化は応用に直結した研究ではあるが、同時にそれは遺伝子発現の原理解明のための格好の切り口となり得るといふ学問的価値も有している。本稿では、最近筆者らが開発してきた休眠遺伝子活性化技術と、実際の新物質発見の例

OCHI Kozo

〒305-8642 つくば市観音台2-1-12

を解説する。

2. 休眠遺伝子とは

休眠遺伝子の定義は難しいが、ここでは物質生産の観点から、スクリーニングで感知できない程の微弱な生産力も含めて休眠遺伝子と呼ぶことにする。休眠遺伝子の発現により生産される物質がイコール新物質とはもちろんならないが（他の微生物ではその遺伝子が休眠ではなく容易に発現しているかもしれない）、通常の方法で発現・生産される物質群からスクリーニングを行うよりは、はるかに効率よく新物質を捉えることができるに違いない。その好例として、最近我々は研究に汎用される枯草菌168株からさえも、休眠遺伝子を活性化させることによって抗生物質ネオトレハロサジアミンの生産に成功している^{1) 2)}。この抗生物質は10年程前に他の*Bacillus*属細菌からすでに発見されているものであったが、ここで強調されるべきは168株ほど研究しつくされたと思われる菌からさえも、抗生物質を改めて作らせることができるという点である。このような眠ったままの遺伝子（潜在的二次代謝生産能）は、我々が今までで見逃してきた部分であって、これを目覚めさせることができれば新物質の発見に繋がることは十分に期待できる。

それでは、微生物にはどれほどの休眠遺伝子

があるのだろうか？ 通常の培養ではいかようにしても抗生物質を生産しない菌であっても、以下に述べる活性化技術を用いることにより、放線菌なら20%、バクテリアなら3%の高頻度で抗生物質を作るようになる（未発表）。つまり、土壌から分離した100株の非生産性放線菌のうち20株を生産株に改造することができる。この事実も、未だ未利用の休眠遺伝子が多数存在することを示すものである。

3. 休眠遺伝子活性化技術

二次代謝の誘発メカニズムに関しては、以前からかなりの共通性が見込まれてきた。実際、多くの二次代謝遺伝子は正の制御因子である経路特異的制御蛋白質（*Streptomyces coelicolor* であればActII-ORF4）によってコントロールされているのが普通である。従って、この誘発システムを普遍的に活性化できるならば、それは優れた休眠遺伝子活性化技術となりえる。以下に筆者らが開発した3つの活性化技術を要約する。

[リボゾーム工学による活性化] 10年程前に、特定のリボゾームに生じた変異（リボゾーム蛋白質S12の変異）が、休眠遺伝子を活性化して *Streptomyces lividans* に青色抗生物質を著量生産させる事実を偶然発見した³⁾。このS12変異の付与は、試験した全ての放線菌・バクテリアの抗生物質生産力を5~30倍に上昇させた⁴⁾。最近ではストレプトマイシン耐性付与によるS12変異のみならず、同じくリボゾーム攻撃性の抗生物質であるゲンタミシン、フシジン酸、チオストレプトンに対する耐性変異の導入も著効を示す事を見出している（未発表）。引き続き、転写酵素であるRNAポリメラーゼに転写阻害剤であるリファンピシン耐性変異を導入することにより、休眠遺伝子の活性化および既存発現遺伝子の著しい増強が可能である事も見出した⁵⁾。筆者らは前者の概念と技術を「リボゾーム工学」⁶⁾、後者を「転写工学」と銘打った

が、技術的な特徴は以下の通りである。

1) リボゾームへの変異導入は、いわゆるリボゾーム攻撃性の抗生物質に対する耐性変異株をとるという極めて簡単な方法でできる。しかも、得られた耐性株のうち実に3~30%の株が休眠遺伝子の活性化または発現遺伝子の著しい増強を起こしているという効率のよさがある⁴⁾。

2) 耐性株を取得する際は、最低生育阻止濃度（MIC）の3、10、30倍といった異なった濃度で選択すれば、より多彩な変異株を得ることができる。

3) 変異の頻度は一般に 10^{-7} ~ 10^{-8} であるが、S12変異は 10^{-10} ~ 10^{-11} と極めて低いので、このような場合は1枚のプレートあたり多量の胞子（または細胞）をまく必要がある。

活性化メカニズムは複雑で未だ不明の点も多いが、以下にポイントを示す。

1) S12変異および休眠遺伝子活性化を起こすその他のリボゾーム変異を有する変異型リボゾームは、生育終了期においても高い蛋白質合成能を保持できるという特異能力を獲得している（野生株では蛋白質合成活性は生育後期に急激に低下する）。そのため、生育後期にその誘発が開始される二次代謝にとって極めて有利な状況となる。これが、休眠遺伝子活性化の最大の要因である⁷⁾。また、この特異能力獲得の原因として、S12変異の場合は70Sリボゾーム粒子の安定化と翻訳因子リボゾーム再生因子（RRF）の増大が2大要因となっている事も明らかにした。

2) 放線菌・枯草菌のリファンピシン耐性（*rif*）変異による変異型RNAポリメラーゼは、各遺伝子のプロモーターに対する親和力が野生型のそれと大きく異なっており（未発表）、直接証明には至っていないが、おそらく二次代謝遺伝子のプロモーターへの親和力が増大したことが、休眠遺伝子活性化の原因である。

[リボゾームメチル化酵素（RsmG）の失活による活性化] 高度ストレプトマイシン耐性を付与する変異（S12変異）と同じく、低レベルス

トブレプトマイシン耐性変異も休眠遺伝子を著しく活性化する⁴⁾。この低レベルSm変異はワックスマンによるストレプトマイシン発見の直後に論文としても報告されているが、その実体(変異遺伝子)は現在まで不明のままとされてきた。この変異遺伝子の特定化は結核という医療面からももちろん重大であるが、最近筆者らは、Mutation Mappingという最新の変異探索技術を用いる事により、この60年来のミステリーを解明するに至った^{8, 9)}。すなわち、低レベルSm変異は16S rRNAの特定部位をメチル化する酵素をコードする遺伝子(*rsmG*)に起きていること、そして*rsmG*変異によりメチル化酵素が失活すると、不思議なことにS-アデノシルメチオニン(SAM)合成酵素遺伝子(*metK*)が劇的に活性化され、その結果生じる細胞内SAMレベルの異常な上昇が休眠遺伝子活性化の直接の原因となっている事を明らかにした。RsmGはリボゾームを修飾する酵素であるから、この*rsmG*変異によるリボゾーム改変も「リボゾーム工学」のひとつと考える事もできるが、S12変異導入の場合と異なり70Sリボゾーム粒子の安定化もRRFの増加も起きていないので、休眠遺伝子活性化のメカニズムは基本的に異なっていると思われる。そのためもあって、S12変異と*rsmG*変異の共存は休眠遺伝子を相乗的に活性化する⁸⁾。それにしても、翻訳を司るリボゾームの変化により、なぜ特定遺伝子(この場合は*metK*)の発現が転写レベルで異常に活性化されるのか、ミステリーとしか言いようがない。

[希土類元素による活性化] 希土類元素とは周期表におけるランタナイド類(15元素)にスカンジウムとイトリウムを加えた17元素の総称である。希土類元素はいずれも生物系研究者には耳慣れないものばかりであるが、磁石、蛍光物質、新セラミックス等の工業では重要な位置を占めている。そのため、いわゆるハイテク工業には必須の物質であり、物理学・化学の方面からはよく研究されてきたが、反面、生物学の観

点からの研究は皆無とってよい。ごく最近筆者らは、スカンジウムを始めとする希土類元素が放線菌、枯草菌など微生物の休眠遺伝子を活性化する事実を見出した¹⁰⁾。培地中に5~30 μ Mの微量の希土類(塩化塩)を添加することにより、本来、抗生物質を生産しないとされてきた*Streptomyces lividans*がアクチノロージンを生産するようになる。一方、500 μ M以上の濃度では殺菌的に作用し菌は生育しない。スカンジウムを始め、試験した希土類は全て有効であったが、希土類に比較的近縁な元素である銅、鉄、亜鉛、マンガン、ニッケルには休眠遺伝子活性化効果はなかった。また、活性化のメカニズムは単に生合成酵素の活性化によるものではなく、二次代謝誘発機構の活性化によるものであった。すなわち、スカンジウム添加により、*S. lividans*の二次代謝制御蛋白質(ActII-ORF4)の発現が転写レベルで顕著に増大しており、これが休眠遺伝子活性化の原因であることを明らかにした。誘発に効果を及ぼすとなれば、普遍性が見込めるわけであるが、これも期待通り*S. antibioticus*によるアクチノマイシン生産と*S. griseus*によるストレプトマイシン生産の増強に有効であった。変異導入と異なり、ただ培地に添加するだけでよいので、利便性という点で優れている。因みに筆者らは、スカンジウムの作用点を明らかにする目的で多様なスカンジウム耐性変異株を取得しているが、予期したようにそれら変異株の一部はスカンジウムを添加せずとも抗生物質を生産する能力を獲得していた(未発表)。従って、添加、変異いずれの方法も休眠遺伝子活性化の技術となりうる。

4. 休眠遺伝子活性化の例

リボゾーム工学により潜在能力を有する微生物を効率よくスクリーニングするためには、休眠遺伝子の検出、さらにはそれらの発現を迅速に判定できる技術が鍵となる。これらの技術を開発するにあたって筆者らがターゲットとしたのは、エリスロマイシンなどの抗生物質を始め

とする有用物質の宝庫であるポリケタイド系化合物である。ポリケタイドの生合成においては、初発酵素であるポリケタイド生合成酵素 (PKS) が鍵酵素となっている。そこで、PCR法によりPKS遺伝子の存在を高感度で検出可能とする技術を開発すると共に、その増幅パターンを既知のPKS遺伝子のパターンと比較することにより、新規物質の生産を予測可能とするシステムを構築した。さらには、RT-PCR法 (逆転写PCR法) を応用することにより、目的とするPKS遺伝子の発現を高感度に検出できる技術を確認した。構築したシステムの有効性を検討するため、土壌より分離した放線菌を対象として、最初にPKS遺伝子を有する菌株をスクリーニング、次にその増幅パターンから新規化合物生産の可能性の高い菌株を選抜した。これらの株から上述の薬剤耐性付与を基本としたリボゾーム工学手法により変異株を取得、PKS遺伝子発現の有無および強度をRT-PCR法により判定した。PKS遺伝子発現活性化の一例を図1に示す。この株では、ストレプトマイシン耐性変異を導入することにより、PKS遺伝子の発現が顕著に活性化されているのが判る。現在までに、新規ポリケタイド化合物の生産が期待される株を多数取得し、リボゾーム工学手法による育種も試みている。また、幾つかの化合物については単離・構造決定が進行中である。以下に、新物質の発見例を示す。

図2 Aに示した *Streptomyces* 属の土壌分離放線菌は、通常の培養条件では抗菌物質を生産しない。リボゾーム工学に基づいて、この放線菌から多数の薬剤耐性変異株を分離したところ、抗菌物質生産能を示す変異株が高頻度で出現していることを確認できた。この株の場合、転写レベルの活性化作用を示すリファンピシン耐性変異 (RNA ポリメラーゼβサブユニットの変異) が、休眠遺伝子を目覚めさ

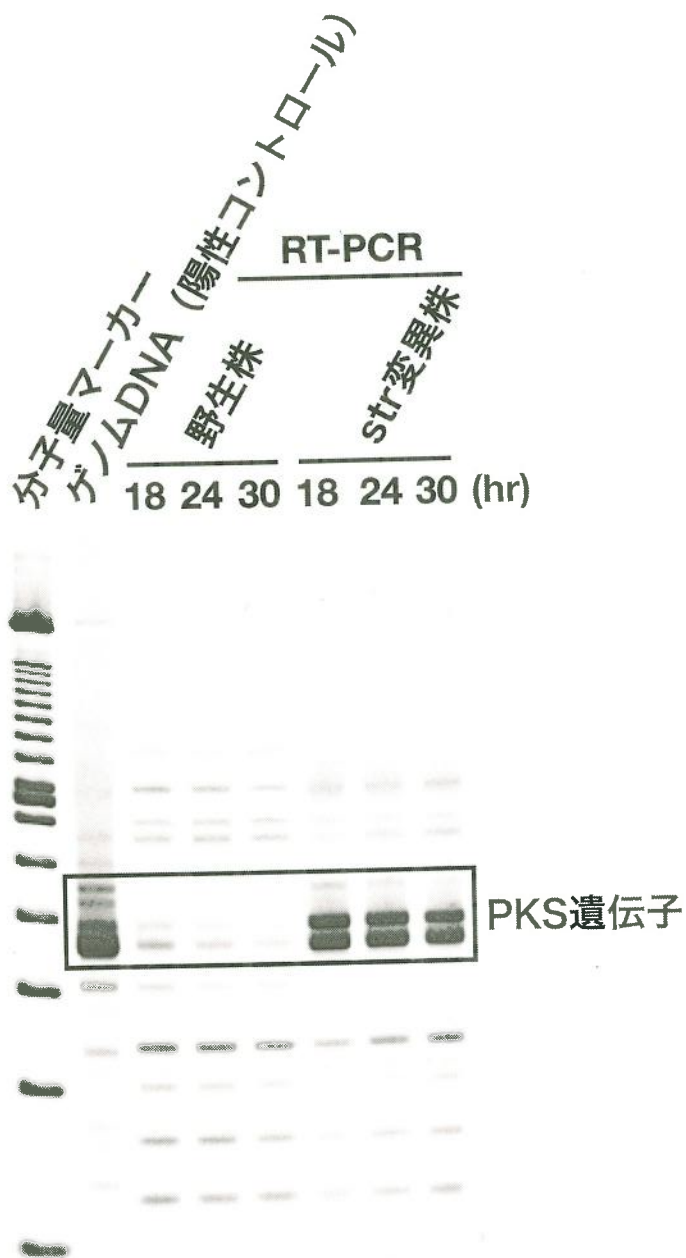


図1 PKS遺伝子の検出およびストレプトマイシン耐性 (*str*) 変異の導入による発現の活性化

せるのに、とりわけ効果的であった。さらに、単独では全く効果を示さないストレプトマイシン耐性変異 (リボゾーム蛋白質S12 変異) がリファンピシン耐性変異との共存下では、抗菌物質生産を2~3倍程度上昇させることも判明した。最近筆者らは、ゲンタミシン耐性変異 (変異部位や活性化のメカニズムは不明) が、リフ

アンピシリン耐性変異やストレプトマイシン耐性変異以上に強力な休眠遺伝子活性化作用を持つことも見出している。本研究で使用した土壌分離放線菌からも、抗菌物質を高生産するゲンタミシン耐性変異株を多数分離することに成功している。これらの活性化株のひとつを用いて、抗菌物質の単離・構造決定を行った所、オルニチン4分子を含むペプチド性イオノフォア系の新物質である事が判明し、ピペリダマイシンAと命名した(図2C)。これまでに、少なくとも8種類の類縁体の存在を明らかにしているが、抗菌物質類縁体の生産パターンが変異種によって異なることは興味深い点である(図2B)。

5. おわりに

リボゾーム工学とは、本来細胞内の蛋白質合成器官であるリボゾームを、変異導入によって様々に改変し、それによって細胞内機能を一変させようとする技術である。RNAポリメラーゼ改変による転写工学もしかりである。より詳細は最近のレビュー(文献6と11)を参照されたい。最大の特徴は、なんといってもその簡便さにあり、自然界から分離したままの、遺伝子情報が全くわからない微生物にも即適用できる点にある。この意味において、希土類元素による活性化は、耐性変異株をとるという手間さえ不要であり、その利用範囲は極めて広いと期待される。もうひとつの利点は、いわゆる遺伝子操作を全く用いないので、法の規制に触れることがなく、食品産業微生物、環境制御微生物にも適用できて、直ちに工場生産や自然界への散布が可能な事である。リボゾームの構造は原核と真核生物の間で大きく異なっており、そのため本稿で述べたリボゾームへの変異導入の

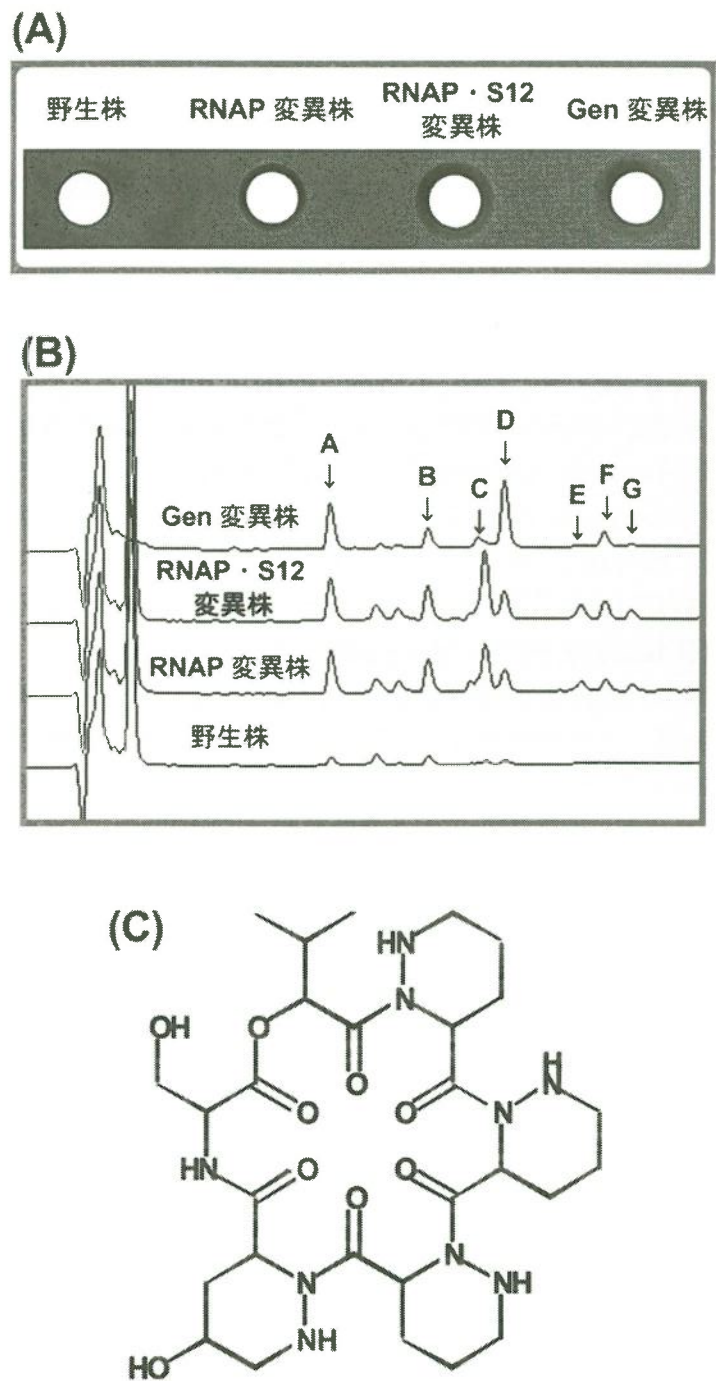


図2 リボゾーム工学による新抗生物質ピペリダマイシンの発見

- (A) 土壌分離放線菌の潜在的抗生物質生産能の活性化
- (B) 野生株と変異株の培養抽出物のHPLC分離パターン
図中の矢印A~Gはピペリダマイシン類縁体を示す。
- (C) 新抗生物質ピペリダマイシンAの構造

技法は真核生物には適用できず、この点は将来に残された課題である。リボゾーム工学の概念そのものは、植物や動物細胞への適用も基本的には可能であり、今後、微生物以外の生物系への応用技術の確立が強く望まれる。

文 献

- 1) Inaoka, T. et al. (2004), *J. Biol. Chem.*, 279, 3885-3892
- 2) Inaoka, T., and Ochi, K. (2007), *J. Bacteriol.*, 189, 65-75
- 3) Shima, J. et al. (1996), *J. Bacteriol.*, 178, 7276-7284
- 4) Hosoya, Y. et al. (1998), *Antimicrob. Agents Chemother.*, 42, 2041-2047
- 5) Hu, H. et al. (2002), *J. Bacteriol.*, 184, 3984-3991
- 6) Ochi, K. et al. (2004), *Adv. Appl. Microbiol.* 56, 155-184
- 7) Hosaka, T. et al. (2006), *Mol. Microbiol.*, 61, 883-897
- 8) Nishimura, K. et al. (2007), *J. Bacteriol.*, 189, 3876-3883
- 9) Okamoto, S. et al. (2007), *Mol. Microbiol.* 63, 1096-1106
- 10) Kawai, K. et al. (2007), *FEMS Microbiol. Lett.* 274, 311-315.
- 11) Ochi, K. (2007), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71, 1373-1386

◀国内情報▶

鳥とヒトのインフルエンザワクチン株ライブラリー

北海道大学 大学院獣医学研究科 教授，
人獣共通感染症リサーチセンター長
喜 田 宏

家禽，家畜，野生鳥獣およびヒトのインフルエンザウイルス遺伝子はその全てが野生水禽，特にカモの腸内ウイルスに起源がある。家禽，家畜およびヒトの新型ウイルスの亜型を予測するために，自然界の水禽，家禽とブタ，そしてヒトのインフルエンザの疫学調査を地球規模で展開している。自然界のカモから分離したすべての亜型の非病原性インフルエンザAウイルス株ライブラリーを構築，公開した。既に国内外の26機関で利用されている。

1. はじめに

アジアでH5N1亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルス（HPAIV）が家禽に甚大な被害を及ぼしている。病因ウイルスは，渡り鳥が北方圏の営巣湖沼から持ち込む非病原性のウイルスが水生家禽を介してニワトリに伝播し，ニワトリ集団内で感染を繰り返す間にニワトリに対する病原性を獲得したものである。感染により斃死，あるいは防疫のために処分された家禽の総数は，2003年末からこれまでに4億羽を超える。2004年まで，発生はアジア諸国に限られていた。越冬中の渡り鳥には，H5N1 HPAIVに感染し，北の営巣湖沼に辿り着く前に中国北部やモンゴル等で斃死したものがあつた。これらの感染水鳥から，水系でさらに野生水禽に伝播し，アジア，中東，ヨーロッパ，アフリカの62カ国にまで同じ系統のウイルスによる野鳥および家禽の被害が拡がった。

タイ，ベトナム，カンボジアとインドネシアなど12カ国では，これまで300余名のヒトがH5N1ウイルスに感染し，190余名が死亡している（2007年7月現在）。これらのほとんど全例が，家禽のウイルスに直接感染したものである。少数の家族内感染を疑う例が報告されているが，夫婦間の伝播は認められていない。さら

KIDA Hiroshi

〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目

に，感染したヒトから分離されたウイルスはすべてニワトリから分離されたウイルスと同じレセプター特異性（SA α 2,3Gal）を保持していた。以上の事実から，罹患者は通常のヒトと比べ，H5N1 HPAIVの感染に極めて高い感受性を有する特別な個体であることが解る。

このような背景の下で，H5N1ウイルスがヒト集団に侵入し，新型ウイルスとして猛威を振るうものと想定されている。我が国を含め，先進諸国とWHOはこれに備えて，ヒト用不活化H5N1ウイルスワクチンを生産して備蓄するなどの緊急計画を策定した。H5亜型のウイルスがヒトの新型ウイルスとしてインフルエンザの大流行を起こす可能性を否定するものではないが，H5N1ウイルスのみに目を奪われて，他の亜型のウイルスも新型として出現する可能性があることを忘れるべきでない。HPAIは古代から世界各地の家禽に発生しているが，その原因ウイルスがヒトに伝播して拡がり，インフルエンザの大流行を起こした事実は知られていない。他方，ヒトのインフルエンザウイルスは家禽に感染しない。HPAIVの“病原性”と“伝播力”は，ニワトリにおけるもので，ヒトにおけるものではない。

2. インフルエンザAウイルスの生態

インフルエンザAウイルスはヒトを含む哺乳

動物と鳥類に広く分布する。なかでも、カモからはすべてのヘマグルチニン（HA）とノイラミニダーゼ（NA）亜型（それぞれH1-H15とN1-N9）のウイルスが分離されている。インフルエンザウイルスの生態調査と遺伝子の系統解析によって、ヒト、家禽と家畜のインフルエンザAウイルスの遺伝子はすべてカモのウイルスに由来することが判った。カモは夏に、北方圏の営巣湖沼でウイルスに水系経口感染し、結腸陰窩の上皮細胞で増殖したウイルスを糞便と共に排泄する¹⁾。カモが排泄したインフルエンザウイルスは他の水禽に水系伝播する。秋にカモは南方に渡り、越冬する。カモが排泄する非病原性ウイルスは、ふつう、ニワトリに感染しない。ウズラ、シチメンチョウやガチョウなどを経てはじめてニワトリに伝播する。このような低病原性ウイルスは、ニワトリ集団内で感染を繰り返すと、ニワトリに対する病原性を獲得することがある。これがHPAIVである。HPAIVのHA亜型はH5またはH7に限られる。

カモに受け継がれているインフルエンザウイルスの抗原性と遺伝子は高度に保存されている²⁾。北方のカモの営巣湖沼がインフルエンザウイルスの貯蔵庫であり、カモの大腸で増殖して、糞便と共に排泄されたウイルスは、カモが渡りに飛び立った後、冬の間、湖沼水中に凍結保存される³⁾。アラスカのカモから分離したウイルスは北米大陸で家禽と家畜が保有するウイルスと近縁であり、シベリアのカモから分離したウイルスはアジアで分離されたウイルスと近縁である。即ち、新型インフルエンザウイルスの登場舞台である南中国に飛来するカモはシベリアの湖沼からウイルスの遺伝子を持ち込む⁴⁾。

3. 新型インフルエンザウイルスの出現機構

新型インフルエンザウイルスとは、過去数十年間、ヒトが経験していないヘマグルチニン（HA）またはノイラミニダーゼ（NA）亜型のインフルエンザAウイルスのことである。新た

なHA亜型のウイルスがヒトに伝播する性質を獲得すれば、インフルエンザの大流行が起こる。前世紀、新型ウイルスは3回出現し、その度に多くの人命が失われ、社会機能が麻痺した。一方、HPAIは、野鳥を家禽化した古代から発生していたに違いないが、その原因ウイルスがヒトに伝播して拡がり、インフルエンザの大流行を起こしたことは知られていない。過去の新型インフルエンザウイルスの出現機構を踏まえ、これから出現する新型ウイルスに備える対策を確立しておかなければ、同じことが繰り返されるであろう。

家禽、家畜とヒトのインフルエンザAウイルスの遺伝子はすべてカモの腸内ウイルスに由来する。インフルエンザウイルスはおそらく人類が地球上に現れる前から水禽との間に静かで安定な宿主・寄生体関係を確立し、水系伝播を繰り返しながら存続してきたのであろう。カモのウイルスが家禽、家畜を介してヒトのインフルエンザウイルスと遺伝子を交換し、ヒトに伝播したものがヒトの新型ウイルスである。

ブタの呼吸器上皮細胞は、その表面にヒトのウイルスに対するレセプターばかりでなく、鳥類のウイルスに対するレセプターもある⁵⁾ので、カモのウイルスにも感染する。ヒトのウイルスとカモのウイルスがブタに同時感染すると、両ウイルスの遺伝子再集合体が生ずる⁶⁾。その中で、カモのウイルスに由来するHA遺伝子を持ち、ヒトに伝播したものが新型ウイルスである。H1-H15何れのHA亜型の鳥インフルエンザウイルスもブタの呼吸器で増殖する。したがって、何れの亜型のHAをもつ遺伝子再集合体もブタの呼吸器で産生され、新型ウイルスとして出現する可能性がある。

1968年に出現した新型インフルエンザウイルスA/ホンコン/68（H3N2）株はカモがシベリアの営巣湖沼から家禽に持ち込んだウイルスとそれまでヒトに流行していたH2N2ウイルスが中国南部でブタの呼吸器に共感染して生じた遺伝子再集合体である⁷⁾。カモ、中国南部のアヒルおよびブタがそれぞれ、ウイルスの供給、伝

播および遺伝子再集合体産生の役割を果たしたのである⁸⁾。すなわち、H3HA遺伝子の導入経路は、カモ→アヒル→ブタ→ヒトである。1957年の新型H2N2ウイルスも同様の経路で出現したものと推定される。1918年にスペインインフルエンザを引き起こしたH1N1ウイルスは北米大陸の系統の鳥類インフルエンザウイルスを起源とする⁹⁾。同年初頭に米国イリノイ州から広がったブタインフルエンザウイルスに由来するものと考えられる(図1)。

4. 高病原性鳥インフルエンザウイルス (HPAIV) の出現機構

HPAIとは、インフルエンザAウイルスの感染による致死的な家禽の疾病である。1997年に香港で18人に感染して6人を死亡させたH5N1ウイルスの起源は、シベリアからカモが持ち込んだウイルスがニワトリに伝播し、感染を繰り返す間にニワトリに対する病原性を獲得したものである⁴⁾(図2)。この事件を契機に、生鳥の小売りマーケットがインフルエンザウイルスの

温床、遺伝子プール、異種鳥への感染と遺伝子再集合、病原性獲得、そしてヒトへの偶発的な伝播の場として主要な役割を果たしていることが明らかとなった。東南アジア、中国、アメリカ合衆国ならびに中南米で頻繁に発生、流行が見られる高病原性鳥インフルエンザの起因ウイルスのほとんどは生鳥マーケットに由来する。

2003年以来アジアに流行しているHPAIの病因H5N1ウイルスが2005年4～6月に中国で、その後モンゴルでガン、ハクチョウ等の野生水禽の斃死体から分離され、これが家禽に再侵入して被害を拡大することが危惧された^{10, 11)}。実際、中国のH5N1 HPAIV株は、水系で野生水禽に伝播し、アジア、中東、ヨーロッパ、アフリカの62カ国の野鳥および家禽に被害を拡げた(WHO)。インフルエンザウイルスが存続している北方の渡りガモの営巣湖沼にHPAIVが持ち込まれ、定着し、毎年カモがこれを南方に運ぶ可能性が危惧されるため、私たちはモンゴルと日本で秋にシベリアから飛来する渡り鳥の疫学調査を強化している。

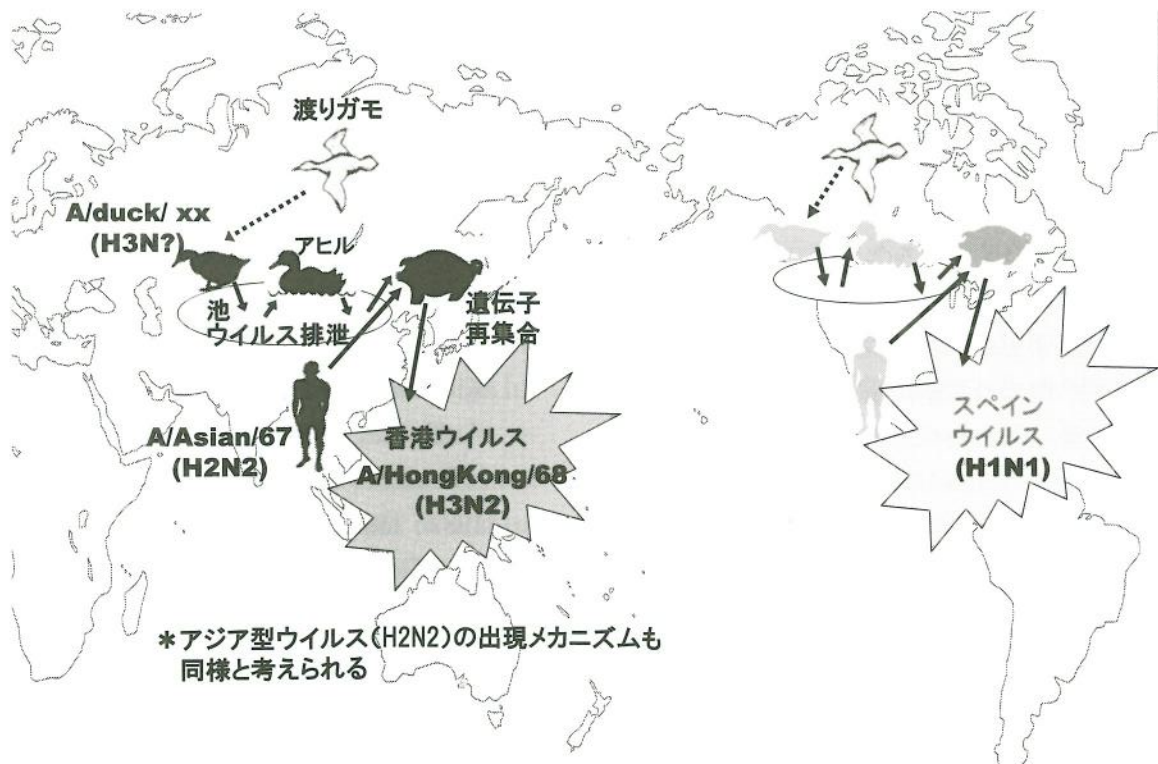


図1 新型インフルエンザウイルスの出現機序

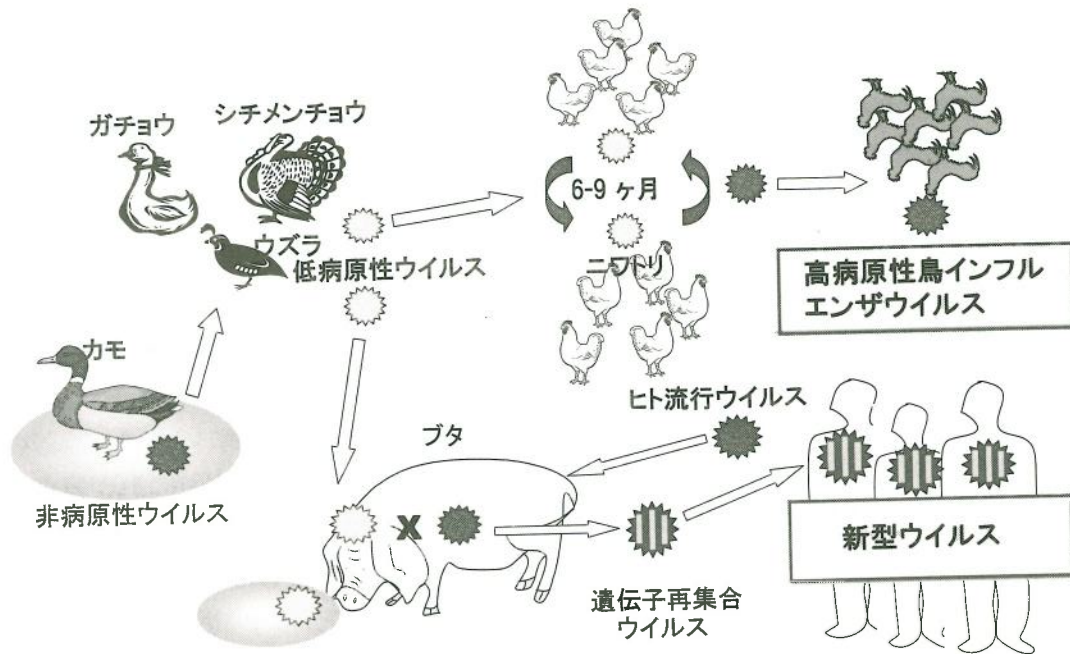


図2 高病原性鳥インフルエンザおよびヒトの新型インフルエンザウイルスの出現機序

5. 新型インフルエンザウイルス対策

これまでに出現した新型インフルエンザウイルスは、以上に述べたように、カモの腸内ウイルスが家禽を経て、ブタの呼吸器でヒトのウイルスの遺伝子を獲得した再集合体である。さらに、新型として出現した当時のウイルスのHAとNA遺伝子は、現在もカモのウイルスに保存されている。従って、インフルエンザウイルスの自然宿主である渡りガモ、家禽、家畜（特にブタ）とヒトのインフルエンザのグローバルサーベイランスを不断に展開し、それぞれで優勢に分布するウイルスの亜型を明らかにするとともに、ウイルスの生態、宿主域、哺乳動物に対する病原性、生物性状およびヒトの免疫状態を精査した上で、H5N1を含め、何れが新型ウイルスとして登場する可能性が高いかを評価、予測する必要がある。疫学調査で分離されるウイルスの中から、抗原性、生物性状と遺伝子の解析成績に基づいて全ての亜型のワクチン候補株を選出、保存しておけば、新型ウイルスの出現に際して、ワクチンと診断のための的確な株を直ちに提供できる。このため、自然界のカモか

ら分離したすべての亜型の非病原性インフルエンザAウイルス株および遺伝子ライブラリーを構築し、ウェブサイト (<http://virusdb.czsc.hokudai.ac.jp/vdbportal/view/index.jsp>) に公開した(図3)。既に、国内外の26機関でワクチン株や診断抗原として活用されている。

文献

- 1) Kida H, Yanagawa R, Matsuoka Y : Duck influenza lacking evidence of disease signs and immune response. *Infect Immun* 1980 ; 30 : 547-553.
- 2) Kida H, Kawaoka Y, Neave CW, et al : Antigenic and genetic conservation of H3 influenza virus in wild ducks. *Virology* 1987 ; 159 : 109-119.
- 3) Ito T, Okazaki K, Kawaoka Y, et al : Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs. *Arch Virol* 1995 ; 140 : 1163-1172.
- 4) Okazaki K, Takada A, Ito T, et al : Precursor genes of future pandemic

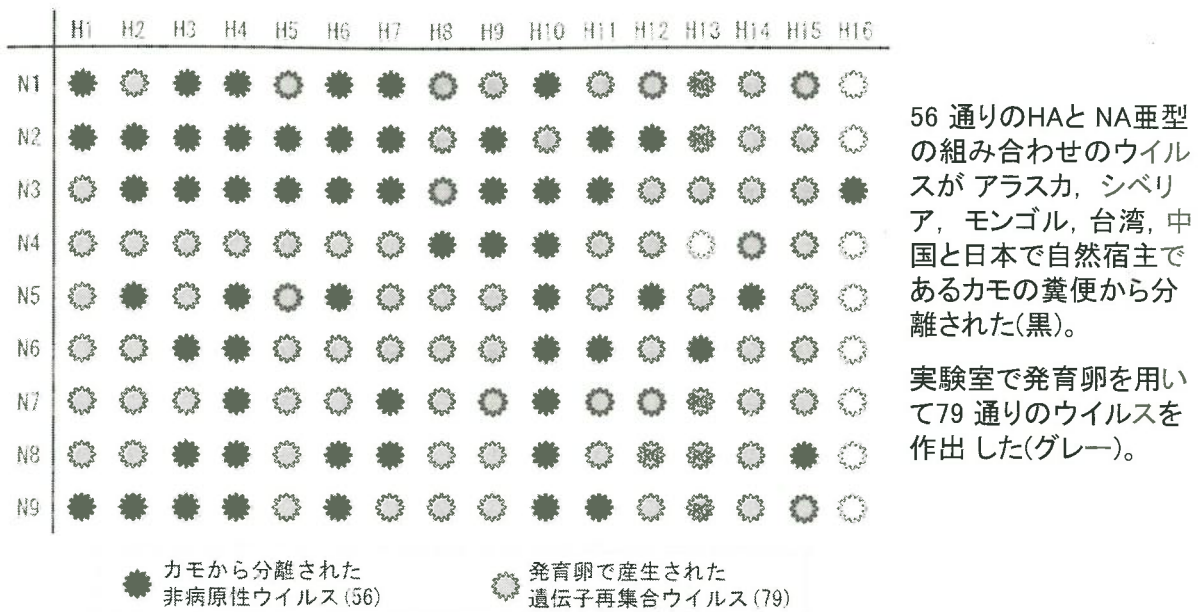


図3 インフルエンザウイルス株ライブラリー

134通りのHAとNA亜型の組み合わせのウイルスをワクチン製造用株として系統保存した。すべてのウイルス株の病原性(－), 抗原性, 遺伝子情報と発育卵における増殖能を解析, データベース化し, ウェブサイトに公開した。

- influenza viruses are perpetuated in ducks nesting in Siberia. *Arch Virol* 2000 ; 145 : 885-893.
- 5) Ito T, Nelson J, Couceiro SS, *et al* : Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol* 1998 ; 72 : 7367-7373.
 - 6) Kida H, Ito T, Yasuda J, *et al* : Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs. *J Gen Virol* 1994 ; 75 : 2183-2188.
 - 7) Kida H, Shortridge KF, Webster RG. Origin of the hemagglutinin gene of H3N2 influenza viruses from pigs in China. *Virology* 1988 ; 162 : 160-166.
 - 8) Yasuda J, Shortridge KF, Shimizu Y, *et al* : Molecular evidence for a role of domestic ducks in the introduction of avian H3 influenza viruses to pigs in southern China, where the A/Hong Kong/68 (H3N2) strain emerged. *J Gen Virol* 1991 ; 72 : 2007-2010.
 - 9) Tausenberger JK, Reid AH, Fanning TG : The 1918 influenza virus : A killer comes into view. *Virology* 2000 ; 274 : 241-245.
 - 10) Liu J, Xiao H, Lei F, *et al* : Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science* 2005 ; 309 : 1206.
 - 11) Chen H, Smith GJD, Zhang SY, *et al* : H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl -A worrying development could help to spread this dangerous virus beyond its stronghold in southeast Asia. 2005 ; 436 : 191-192.

◀国内情報▶

カイコが黄色の繭を作るメカニズム
— カロチノイドの選択的輸送機構の解明¹国立感染症研究所 放射能管理室,²東京大学 新領域創成科学,³農業生物資源研究所 遺伝子組換えカイコ研究センター土田 耕三¹・作道 隆¹・中島 健陽¹・藤本 浩文¹・高田 直子¹・片岡 宏誌²・瀬筒 秀樹³・田村 俊樹³

カイコが作る黄色の繭はカロチノイドの色である。カイコはカロチノイドを吸収し、目的の器官まで輸送するマシナリーを持っている。白い繭を作るカイコは、カロチノイドの輸送系の一部または数か所を欠き、カロチノイド輸送が滞るために黄色くならない。我々のグループは黄色い繭を作る遺伝子Yを分子生物学的に同定し、その産物であるカロチノイド結合タンパク質の働きによってカロチノイドが目的の組織に運搬されるメカニズムを明らかにした。

1. はじめに

昆虫の蛹は、歩き回る幼虫や羽をもった成虫と異なり、移動ができない不遇の時期に当たる。この時期に、外敵から身を守り、雨をよけるために、葉や枝を巧みに利用し快適な居住空間である繭をつくる。繭と言えばカイコが有名であり誰でも一度くらいは手に取って見たことがあると思う。カイコの繭の色は白色が主流だが、白以外に黄色、肉色、紅色、緑色等がある。カイコの繭の色は桑の葉から吸収された色素成分が繭の主成分である絹タンパク質と結合することで着色される。白い繭は色素成分が何も結合していないことになる。

黄色い繭の色素成分はカロチノイドの一種、ルテインである。桑の葉由来のルテインはカイコの体内を移動し、絹タンパク質の合成器官で

TSUCHIDA Kozo¹, SAKUDOH Takashi¹,NAKASHIMA Takeharu¹, FUJIMOTO Hirofumi¹,TAKADA Naoko¹, KATAOKA Hiroshi²,SEZUTSU Hideki³, TAMURA Toshiki³¹〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1²〒277-8562 千葉県柏市柏の葉5-1-5³〒305-8634 茨城県つくば市大わし1-2

ある絹糸腺に運搬される。カロチノイドのような疎水性物質の運搬には特別な運搬体（特異結合タンパク質）が必要であり、またカロチノイドを目的の器官のみに正確に運搬していることから考えて、物質を必要な時に必要とする場所に的確に配置する、動的秩序を維持するシステムがカイコにも存在していることが理解できる。この生物学上の基本課題は、未解明のままであるが、まず、特定の物質を特定の場所に選択的に輸送するマシナリーを明らかにすることが必要であると考えられる。この研究課題を行うにあたり、カイコを材料にする利点はいくつかある。カイコには、カロチノイドを的確に運ばない突然変異体が存在し、その表現型解析から特定の遺伝子の連関分析が進んでいること、また、カイコはカロチノイドの分析やその運搬を行うタンパク質の精製を行う場合でも、材料の採集にさほど手間のかからない大型の生物であることなどである。以上の理由から、我々のグループはカイコを用い、生化学・遺伝学・分子生物学的解析を行うことによって、カロチノイドの輸送に関わるタンパク質、その生理機能等の全体像を明らかにし、選択的輸送のメカニズムに迫ろうとしている。

2. カロチノイド結合タンパク質

カロチノイドは、2つのジテルペノイドが結合してできる脂溶性の色素である。動物はカロチノイドの合成系を持たないために、植物からカロチノイドを吸収し利用する。しかしながら動物がいかにしてカロチノイドを吸収し、目的の組織、たとえば、ヒトの黄体や網膜の黄斑にカロチノイドを運搬しているのか不明であった。

カイコを用いた遺伝解析は古くから行われ、遺伝子の連関分析も進んでいる。体液（血液に相当）が黄色い表現型を示す遺伝子をYとし、劣性⁺は無色透明の体液になる¹⁾。Y遺伝子を持つカイコの体液が黄色になることは、桑葉からカロチノイドが吸収され、中腸（幼虫の消化管）上皮細胞を透過し体液まで運搬されたことを意味することから、中腸上皮細胞内にはカロチノイドと特異的に結合し細胞内透過を行う特別なタンパク質の存在が示唆され、さらにこのタンパク質はY遺伝子の産物ではないかと考えられてきた。黄色の繭は、絹タンパク質合成器官である絹糸腺が、黄色の体液からカロチノイドを取り込むことで色素が供給される。この絹糸腺へのカロチノイド取り込みに関してもY遺伝子が働いている。我々は、黄色の繭を作るカイコの絹糸腺はカロチノイドを取り込み、絹糸腺上皮細胞を透過するためのタンパク質が存在するとの前提から、絹糸腺を集め黄色いタンパク質（カロチノイド結合タンパク質、CBP）を精製することにした。最終的に精製したタンパク質は33kDa、ルテインと結合するものであった²⁾。このタンパク質の抗体を作成し、カイコ絹糸腺のcDNAライブラリーから、抗体を用いてスクリーニングを行い、CBPのcDNAをクローニングした。cDNAの塩基配列から予想されたタンパク質は、哺乳類のsteroidogenic acute regulatory protein (StAR) のアミノ酸配列と相同性を持ち、StAR関連脂質結合 (START) ドメインを持っていた。StARのSTARTドメインは、コレステロールと結合するが、カイコ

から精製したタンパク質は、コレステロールではなくカロチノイド（カロチノイドのうち90%以上はルテイン、それ以外にはβ-カロテン等で構成される）と特異的に結合するタンパク質であった。CBPは絹糸腺以外にも中腸、精巣や卵巣で作られることが、抗CBP抗体を用いたウエスタンブロットによって明らかになった。またCBPは中腸のうち前方で多く発現しており、カロチノイドの吸収部位が前方にあると考えられた。絹糸腺においては、中部絹糸腺と呼ばれる特定の部位のみでCBPが作られ、後部絹糸腺での発現は見られず、CBPの発現は、組織特異的であると同時に、決まった部位で発現する部位特異的発現をしており、CBPの組織内分布はこのタンパク質の機能と密接に関連していることが示唆された。

3. CBPとY遺伝子

CBPとY遺伝子との関連を、Yと⁺両系統でのCBPの発現、両遺伝子の染色体上のマッピング等から調べてみた。CBPの発現を、突然変異体を用いてウエスタンブロットや免疫組織化学的方法で検討してみると、CBPはY遺伝子を持つ系統で発現し、Y遺伝子の劣性である⁺遺伝子をホモに持つ系統ではCBPを検出することができなかった（図1）³⁾。

カイコでは、さまざまな表現型に関する遺伝子に対して連関分析が行われてきた。Y遺伝子は28組の染色体のうち第2染色体に存在することが明らかにされている。一方、分子生物学の発展に伴い、分子マーカーを用いた連関分析が行われ、カイコにおいても、特定cDNAの染色体上の位置を調べるマッピングの方法が発展してきた。この解析の結果、CBP遺伝子は第2染色体に存在し、表現型解析からえられたY遺伝子の染色体上の位置関係は近似していた⁴⁾。以上の結果は、CBP遺伝子はY遺伝子に相当することを示していると考えられるが、さらにY遺伝子を持つ系統と⁺をホモに持つ系統のCBP遺伝子構造を比較することによって、CBPはY遺

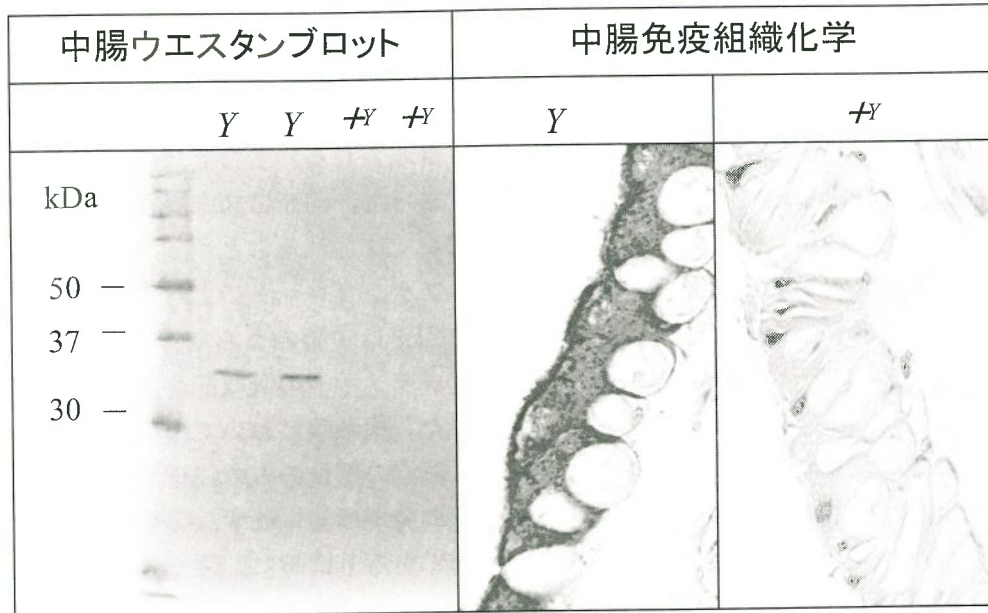


図1 抗CBP抗体を用いたウエスタンブロットと免疫組織化学によるCBPの検出
中腸から抽出したタンパク質に対してウエスタンブロットを行うとY系統のみにCBPのバンドが検出できる（左の写真）。中腸の組織切片に対する免疫組織化学（右）によってもY系統において抗CBP抗体に反応し、強く染色される。

伝子の産物であることがより明白になった^{5), 6)}。Yおよび+^Y両系統のCBP遺伝子は、7つのエクソンと6つのイントロンから構成される約12kbpの長さをもっていたが、+^YにはY系統では見られない欠失があった。すなわち、第2エクソンの3'側169bpが、隣接するイントロン562bpとともに欠失し、その欠失部位には約3kbpのnon-LTR型レトロトランスポソンの部分配列が挿入していた。さらにYと+^Y両系統のmRNAをノーザンハイブリダイゼーションやRT-PCR法で比較すると、+^Y系統のmRNAはY系統に比べて約300nt短く、この短縮は第2エクソンの長さに相当した。すなわち+^Y系統では第2エクソンの一部に欠失が起こったために、正常なスプライシングが起こらず、第2エクソンを欠く第1エクソンに第3エクソンが連結するmRNAを作っているために、mRNAが短いことがわかった。CBP遺伝子の第2エクソンには、メチオニンから始まる翻訳開始点が存在し、この部分を欠失したmRNAからはタンパク質が翻訳されていないと考えられる。以

上の結果は、Y遺伝子がCBP遺伝子そのものであると強く示唆するものであり、またY遺伝子の対立遺伝子+^Yにおいて、なぜ黄色の表現型が現れないのか、その理由を分子生物学的に証明したものといえる。

この他にもCBP遺伝子構造の比較から、Yと+^Y両系統でCBP遺伝子のコピー数にも差のあることがわかった。Y系統においては、レトロトランスポソンの挿入のないCBP遺伝子の他に、レトロトランスポソンの挿入が起こっているCBP遺伝子もあることがわかった。この場合のレトロトランスポソンの挿入は、+^Y系統のように第2エクソンの1部の欠失を招くようなことはなく、第2エクソンと第3エクソン間のイントロン内に約7kbpの長さを持つレトロトランスポソンが挿入していたが、エクソンの欠失等は見られなかった。Y系統はレトロトランスポソンの挿入のないものと挿入のある少なくとも2つのCBP遺伝子が存在し、+^Y系統は、第2エクソンの欠失と5'側を欠いたレトロトランスポソンの挿入を伴った1つのCBP遺伝子

だけであった(図2)⁶⁾。

4. $+Y$ 系統へCBP遺伝子の導入

我々は、*piggyBac*を用いたトランスジェニック作出法、および酵母GAL4/UAS系を用いた遺伝子発現の手法を用いて、 $+Y$ (白血白繭)系統へCBP遺伝子を導入しCBPの発現を試みた⁶⁾。その結果、中腸でCBPを発現させた場合、終齢幼虫の体液は無色から黄色になり、強制発現をさせた幼虫体液から黄色の成分をアセトン-エーテル抽出して、逆相液体クロマトグラフィー分析で調べたところ、保持時間と吸光スペクトルの解析からルテインであることがわかった。ルテインはY系統の体液に存在するカロチノイドの主成分であり、CBPに結合しているカロチノイドである。また、中腸と絹糸腺の両方にCBPを発現させた場合、中部絹糸腺は黄色になり、このカイコが作った繭は黄色になった。以上のことから、白血白繭系統において、CBP

を中腸で強制発現することによってカロチノイドは中腸から体液に移行し、その結果、体液を黄色にし、絹糸腺で強制発現させることでカロチノイドが体液から絹糸腺に取り込まれ、最終的に黄色い繭を作ったと考えられる。この結果は、Y遺伝子がコードするタンパク質がCBPであることを機能的に証明したものであり、また、遺伝子組換え技術を用いて、実用繊維に天然色素を輸送し、着色を実現した初めての例となった。

5. おわりに

我々は、カイコが桑から吸収した色素を絹タンパク質合成器官、絹糸腺まで運搬するメカニズムを明らかにすべく研究を行ってきた。CBPはカロチノイドの細胞内透過に重要な役割を担い、中腸上皮細胞や中部絹糸腺上皮細胞の透過に必須であることを明らかにし、CBPが存在しないとカロチノイドの取り込みや細胞内透過が滞り、カロチノイドの輸送ができないことがわかった。CBPはカロチノイドを目的の器官まで正確に輸送するマシナリーを構成する一つの部品であるといえ、またこのCBPは、表現型解析から知られていたY遺伝子がコードするタンパク質であることを明白にした。この我々の発見は、最初にY遺伝子を記載した外山亀太郎の報告¹⁾からすでに100年を経過している。

この研究の応用面について言及すれば、カロチノイド等天然色素による絹の人為的な染色を遺伝子組換え技術を用いることで行えることを示したといえる。黄色の絹糸は、単に黄色いばかりでなく、光の角度によって黄金の輝きを見せることもあり、そのまま何年もの間、カロチノイドが安定し黄色を保持する。現有品種中に、黄色

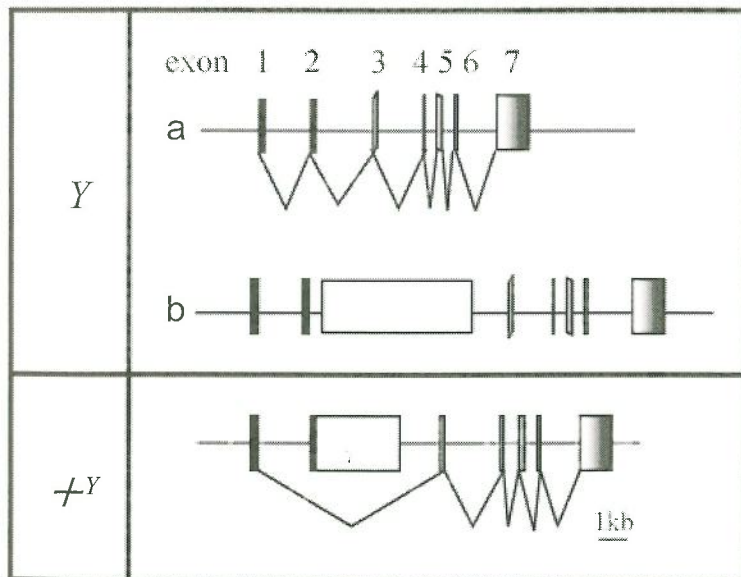


図2 Yおよび $+Y$ 系統におけるCBP遺伝子の構造
Y系統はaで示した7つのエクソンからなる遺伝子の他に、bで示したレトロトランスポゾン(白抜きの四角)が挿入した遺伝子の少なくとも2つのタイプのCBP遺伝子が存在する。 $+Y$ 系統は、第2エクソンに欠失があり、その部位にY-bで見られたレトロトランスポゾンの3'側半分だけが残ったタイプの1つのCBP遺伝子が存在する。

の繭を作るカイコは存在するものの、これらの色合いは製糸の過程で失われていき、白色の絹糸になる。製糸の過程で天然の色が失われる理由は、絹糸の構造による。絹糸は二層構造をとっており、各層はそれぞれ絹特有のタンパク質から構成されている。このうちカロチノイドは外側の層に結合しているが、この層を構成するタンパク質は中部絹糸腺(CBPも合成している)で合成された可溶性タンパク質であるため、繭から糸を引く際、このタンパク質が失われると同時に色素成分も失ってしまう。繊維としての絹糸の主成分であり、内層のタンパク質は後部絹糸腺で作られるが、この部位でCBPは発現していない。今後、中部絹糸腺におけるカロチノイド取り込みのメカニズムを解明し、その仕組みを後部絹糸腺に導入できれば、製糸したあとも天然の色素で輝きを持つ絹糸が得られると考えられる。我々のグループによって開発したトランスジェニック法を用いることで、桑の葉

から由来する天然の色素で染まった絹を、カイコ自身が作り出せる技術を開発させ、絹糸の高付加価値化、利用の拡大に寄与できる技術の開発につながると期待される。

文 献

- 1) Toyama, K. (1906) Bull. Coll. Agr. Tokyo Imp. Univ., 7, 252-288.
- 2) Tabunoki, H. et al. (2002) J. Biol. Chem., 277, 32133-32140.
- 3) Tsuchida, K. et al. (2004) J. Insect Physiol., 50, 363-372.
- 4) Hara, W. et al. (2007) J. Insect Biotech. Sericol., *in press*.
- 5) Sakudoh, T. et al. (2005) Biochem. Biophys. Res. Comm., 336, 1125-1135.
- 6) Sakudoh, T. et al. (2007) Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 104, 8941-8946.

◀国内情報▶

乗用型水田用除草機を利用した 水田内複合除草技術の開発

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
生物系特定産業技術研究支援センター

宮 原 佳 彦

環境負荷の低減や持続的農業の確立の観点から、除草剤に依存しない雑草管理技術への取り組みが広がっている。生研センターは、水稻の条間と株間を同時に除草する乗用型水田用除草機（高精度水田用除草機）を開発したが、ほ場適応性の拡大と除草効果の安定化等を目的として、同除草機による機械除草と抑草資材の田面散布を複合的に利用する技術については場試験に基づいて検討した。その結果、作業回数を削減しつつも安定した除草効果が得られることが確認され、実用化への見通しが得られた。

1. はじめに

農作物の収量や品質の安定化のためには、作物の生育環境を健全な状態に維持・管理する必要がある、そのために雑草管理（雑草防除）が重要となる。一般に、雑草管理作業の主体であるほ場内及び周辺の雑草除去、すなわち、除草作業は、除草剤の利用により、大幅な効率化、省力化が図られた。しかし、除草剤の多くは化学合成物質であり、環境負荷の低減や持続的な農業の確立等の観点からは、その使用量や使用頻度の低減が求められている。このため、近年では各方面で、除草剤に依存しない雑草管理技術を導入した作物栽培技術への取り組みが進められている。

生研センターでは、このような情勢を踏まえ、水稻栽培における除草剤を用いない雑草管理を支援する農業機械の開発に取り組んで来ており、これまでに、田植と同時に紙マルチを敷設する乗用の田植機（紙マルチ田植機）、水稻の条間と株間を同時に除草できる乗用型の水田用除草機（高精度水田用除草機）等の開発を、農機メーカーおよび現地の協力を得ながら、行ってきた。さらに最近では、機械除草技術と抑草資材の田面散布作業を複合的に行うことにより、安定した除草効果を確保しつつ、低コストで作

MIYAHARA Sumihiko

〒331-8537 さいたま市北区日進町1-40-2

業能率も高い水田内雑草管理技術を実用化するための研究を行っている。そこで今回は、これまでに検討した内容について紹介する。

2. 除草剤を使用しない水田内雑草管理技術の現状

水稻栽培における除草剤を用いない雑草防除手段としては、前述の紙マルチ田植機や高精度水田用除草機の実用化以前は、①手取り除草、②人力あるいは動力式歩行用除草機、③米糠、屑大豆、液体マルチ等の抑草資材の田面散布、④アイガモ、淡水魚等を水田内で放飼する方法等が試みられていたが、いずれも、機械化は遅れており、除草効果や収量の安定性等の面だけでなく、作業能率や労働負担の面でも多くの課題を抱えていた。

紙マルチ田植機は、水田内の抑草のために再生紙マルチを田面に敷設しながら、田植を行うことができる乗用田植機であり、除草剤を用いない雑草管理作業における機械化の必要性を踏まえて、1990年代に鳥取県、鳥取大学、製紙及び農機メーカーが共同して開発・実用化したものである。その後、農業機械等緊急開発事業（以下、緊プロ事業）の下で、生研センターと製紙及び農機メーカーが共同して、マルチ用紙の軽量化と作業能率の向上を図った「軽量紙マルチ敷設田植機」が開発・実用化された。同機

は1998（平成10）年の市販化以降、現在までに約200台が普及しており、作業能率が高く、除草効果も安定した雑草防除技術の一つとして評価されている。しかし、機械の導入と用紙のコストが慣行よりもかさむことから、低コスト化に難がある。

このため、紙マルチ田植機の実用化後は、低コスト雑草防除技術として機械除草に対する期待が高まったが、当時の機械除草は歩行用除草機が主体であり、作業能率が低く、労働負担が大きい上に、水稻の条間のみ除草し、株間の除草はできない構造であるため、その除草性能には限界があった。

3. 高精度水田用除草機の開発

生研センターでは前述のような状況を踏まえて、21世紀型農業機械等緊急開発事業の下、歩行用除草機よりも高能率・高精度な機械除草を可能にする乗用型水田用除草機、すなわち、「高精度水田用除草機」を農機メーカーとの共同により、開発・実用化した。同除草機は、多目的田植機本機（乗用田植機走行部に相当）の後部に除草装置を装着して、移植後の水田内を走行しながら除草作業を行い（図1）、その除草装置には、水稻の条間を除草するための高速回転ロータと、株間を除草するための水平揺動レーキの2種類の除草機構を併用した「回転・揺動式除草機構」を採用している（図2）。



図1 高精度水田除草機による作業風景
（宮城県，2002年5月）

同除草機は、8条（または6条）植えの乗用田植機の作業行程と同一の行程に対して除草作業を行い、田植え後の苗の活着程度や雑草発生状況を見ながら、田植え後7～10日間隔で計3回程度作業を行うのが標準的な利用方法である（図3）。

同除草機は1998～2000（平成10～12）年度での開発研究及び2001（平成13）年度の現地試験（開発促進評価試験）において、上記の標準的な作業方法の下で、歩行用除草機を上回る作業能率と除草効果が確認され、また、稲の損傷・埋没や収量の減少も実用上問題ない程度であったことから、翌2002（平成14）年より市販化され、これまでに農機メーカー3社から約400台が出荷されている。

4. 水田内複合除草技術の検討

生研センターでは、2002年度に農家に導入された高精度水田用除草機（市販機）の稼働状況を調査した。その結果、概ね実用的な除草効果が得られていたが、一部では、他作業との日程や時間的競合や雑草多発ほ場での除草効果不足等の事例があった。また、田面が硬いほ場では除草効果が不安定となり易い、耕盤が軟弱なほ場では除草作業を繰り返すほどに走行が不安定となる、強粘性土壌のほ場では車輪の両側に大量の土塊が生成され易く、轍周辺の稲株が大幅に損傷する等の問題も明らかとなった。

さらに、2003年度は水稻農家を対象に「環境

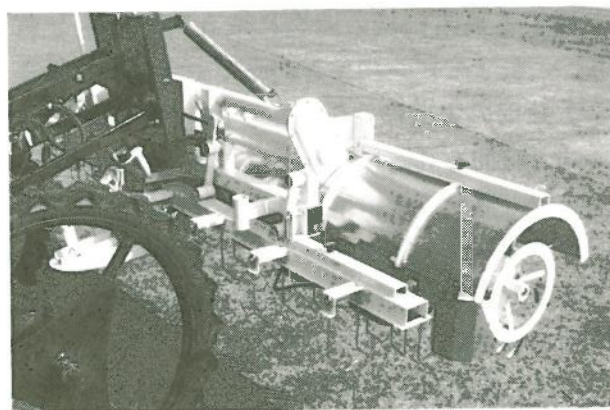


図2 高精度水田用除草機の除草装置
（回転・揺動式除草機構，8条用）

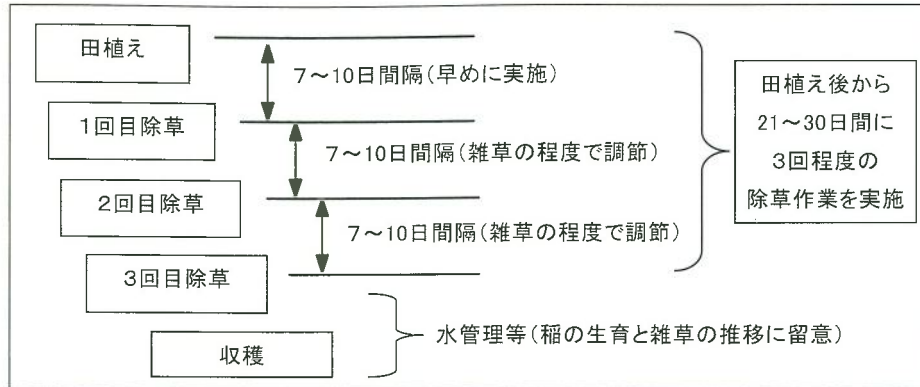


図3 標準的な機械除草作業スケジュール

保全型稲作の機械化に関するアンケート調査（（社）日本農業機械化協会委託調査）を実施した。回答（657件）のうち、「何らかの環境保全型農業を実施」21%、「将来実施予定」6%、「取り組み希望あり」52%となっており、農家の取り組み意欲が示された。また取り組みの理由として、「高付加価値」、「食の安全・安心」、「環境保全への貢献」等が挙げられ、消費者への意識の高さが窺われた。一方、「雑草防除病害虫防除の労力軽減」と「効果安定」が解決すべき課題として挙げられた。また、「除草剤以外の除草技術を利用」が25%あり、その方法として「資材利用（米糠、くず大豆等の散布）」が多かった。以上の結果、高精度水田用除草機等を含めた除草剤を使用しない除草技術においては、ほ場適応性の拡大、除草効果の安定化、低コスト化や高能率化等がさらに必要と考えられた。そこで我々は、前記調査を含むこれまでの様々な試験結果等を参考に、米糠等抑草資材の田面への散布と機械除草を複合的に利用することにより、上記の問題がある程度解決され得るのではと考えた。ただし、作業行程は極力拡大せず、雑草管理作業全体として高能率化や低コスト化が図れるよう、次項で述べるような多目的田植機をベースとした作業機により、複合・同時作業が行える方法で検討した。

5. 試験方法

1) 生研センター附属農場（埼玉県鴻巣市）の

水稻栽培ほ場において、紙マルチ田植機及び高精度水田用除草機による雑草管理を実施し、収量を調査した（2001～2006年度）。

2) 多目的田植機本機に装着または搭載する以下のような装置を試作した（2005～2006年度）。

①深さ3～5cm、幅5cm程度の溝を切り、その溝内に苗を植付ける田植装置（通常の水深で株間部が深水管理となることを意図した。以下、深溝田植）

②高精度水田用除草機を装着した状態で、粒状米糠が機械除草作業直後の田面に散布することができる散布装置（多目的田植機用側条施肥装置を一部改良。図4）

3) 前記1)と同ほ場において、前記2)の試作散布装置を搭載した高精度水田用除草機を用いた雑草管理を実施した試験区（表1）での収量を調査した（2005～2006年度）。

6. 試験結果の概要及び考察

1) 機械除草3回区と紙マルチ田植区の収量を除草剤区の収量との比で比較した結果を図5に示す。両区とも概ね除草剤区の80～90%確保が可能であった。特に、紙マルチ田植区は数年を通じて除草剤区の90%を維持できた。しかし、機械除草3回区は2001～2005年度で85～95%であったが、別途行った収穫時雑草量調査で雑草発生量が多かった2006年度は72%と収量低下が顕著とな



図4 高精度水田用除草機を用いた機械除草・米糠同時散布作業
(生研センター附属農場, 2006年6月)

表1 試験方法の概要

No.	除草方法	機械除草 (回数と時期)	米糠散布の散布量、回数及び時期(実施年度)
1	機械除草3回	3回: 田植後10 日間隔	なし(2001※, 2002, 2003, 2005, 2006)
2	軽量紙マルチ(黒色)	なし	なし(2001※, 2002, 2003, 2005, 2006)
3	軽量紙マルチ(黒色) + 機械除草1回	1回 田植後50日	なし
4	機械除草3回+米糠散布	3回: 田植後10 日間隔	100kg/10a×1回、田植後30日後(2004, 2005) 80kg/10a×3回、田植後10日間隔(2006)
5	機械除草3回+深溝田植	3回: 田植後10 日間隔	なし
6	機械除草3回+深溝田植 +米糠散布	3回: 田植後10 日間隔	100kg/10a×1回、田植後30日後(2004, 2005) 80kg/10a×3回、田植後10日間隔(2006)
7	機械除草2回+深溝田植	2回: 田植後20 日間隔	なし
8	機械除草2回+深溝田植 +米糠散布	2回: 田植後20 日間隔	100kg/10a×2回、田植後20日間隔(2005) 80kg/10a×2回、田植後20日間隔(2006)

※2001年度は、開発促進評価試験

- り, 長期的な雑草対策が必要と考えられた。
- 2) 多目的田植機に深溝田植装置を装着し, 田植え作業を行った結果, 円滑な作業を行うことができ, 植付け位置・姿勢及び欠株の発生等は極わずかであった。
 - 3) 高精度水田用除草機(多目的田植機に除草装置を装着)及びこれに搭載した米糠散布装置を用いて, 機械除草と米糠散布(設定散布量80kg/10a)の同時作業(2~3回)を行った結果, いずれも円滑な作業を行うことができた(図4)。
 - 4) 各試験区における収量を図6に示す。機械除草2回+深溝田植+米糠散布区(すなわ

ち, 複合除草試験区)では, 機械除草作業を標準3回より1回減らした2回としても, 機械除草3回区よりも高い除草効果および収量が得られた。しかし, 収量には現れなかったが, 同試験区には他の試験区に比べてヒエが多発した。これは, 溝両端の土の盛り上がりや時間の経過と共に溝が埋没して浅くなった結果, 水深が浅くなり, むしろ他の試験よりも抑草効果(特にヒエに対する)が低下した結果と思われた。したがって, 深水管理が抑草に効果的とされるヒエ等が防除対象雑草となる場合には, ほ場全体の深水管理と積極的に組み合わせ

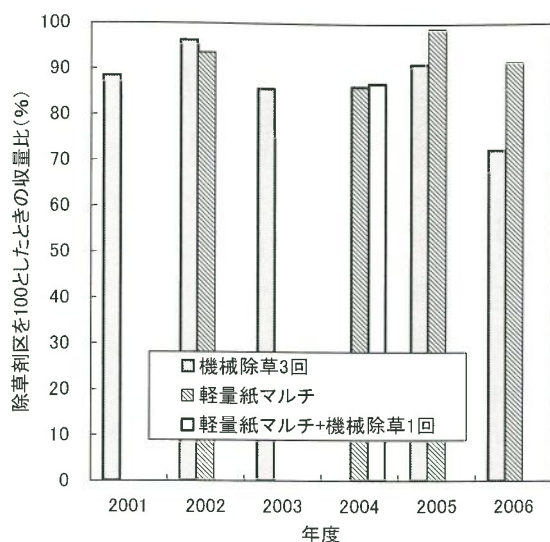


図5 機械除草と紙マルチの収量比較

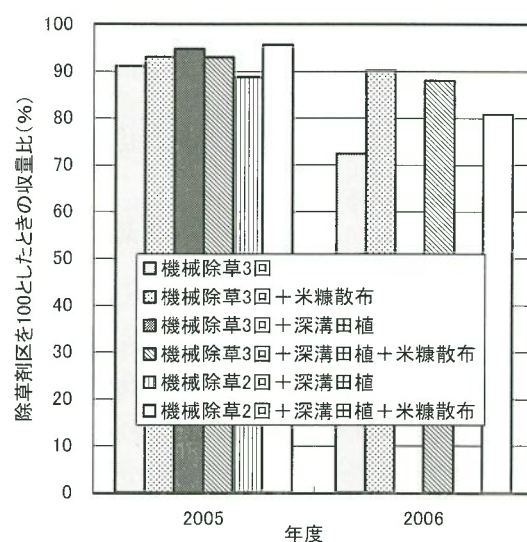


図6 機械除草、深溝田植及び米糠散布の複合作業による収量比較

ること等が必要と考えられた。

- 5) 以上の結果、機械除草と抑草資材散布を複合的な作業として実施することにより、除草効果を維持しつつ、機械除草単独の作業よりも作業回数を削減できる可能性を見出した。すなわち、従来よりも軟弱なほ場への適応も可能となると考えられる。なお、より安定した除草効果を得るためには、土壌管理あるいは水管理等に関する各種作業との複合的な作用を検討する必要がある。

そこで、2007年度から埼玉県農業総合研究センターの協力を得て、多目的田植機をベースとした水田内複合除草技術を組み入れた水稻栽培管理を実施する実ほ場において、その除草効果、実用性及び経済性等を検証するための試験研究を開始した。

7. おわりに

現在、多くの農家が環境負荷の低減とともに高付加価値農産物を生産するために、除草剤に依存しない雑草防除技術への転換を模索している。このような状況において、今回紹介した水田用複合除草技術は、除草剤に依存せずに高度な雑草管理を実現する上で一つの有効な手段と

なり得ると考えられる。しかし、その実用化のためにはさらなる検討が必要であると考えられ、前記のとおり、本年度から実証試験を実施中である。この結果については別途報告させていただくことにするが、いずれにしても、今回報告させていただいた水田用複合除草技術を進化させながら、除草剤に依存しない雑草管理技術の確立を目指して行きたいと考えている。

文 献

- 1) 軽量紙マルチ敷設田植機 (2002), 新農業機械実用化促進株式会社, パンフレット
- 2) 軽量紙マルチ敷設田植機, 生物系特定産業技術研究支援センター, ホームページ, http://brain.naro.affrc.go.jp/iam/Urgent/iam_upro203.htm
- 3) 宮原佳彦 (2002), 機械化農業, 2002 (3), 19-22
- 4) 高精度水田用除草機, 生物系特定産業技術研究支援センター, ホームページ, http://brain.naro.affrc.go.jp/iam/Urgent/iam_upro212.htm
- 5) 環境保全型稲作の機械化に関するアンケート調査結果概要 (2004), 生研センター

◀地域の先端研究▶

デジタルビデオ録画像の利用により牛超音波
肉質診断の脂肪交雑推定精度の向上を図る

栃木県畜産試験場 畜産技術部 肉牛研究室

川 田 智 弘

超音波肉質診断は、肥育牛の生体診断技術として非常に有用であり、ロース芯や皮下脂肪、脂肪交雑などの産肉形質を診断することが出来る。しかし、特に脂肪交雑の診断は、これまで技術者が主観的に判定を行っていたことから診断精度にバラツキが見られ、本技術普及の妨げとなっていた。我々は、この超音波肉質診断技術を改善するため、コンピューターやデジタルビデオを組み合わせたシステムを開発し、脂肪交雑の診断精度向上を図った。

1. はじめに

肉牛肥育において、ロース芯の大きさ、背脂肪やバラ肉の厚さ、筋肉内脂肪の程度などのいわゆる産肉形質は、牛肉の経済価値を左右する重要な要因であり、これらが肥育期間中にどのように発達するかを知ることは、肥育技術を研究する上で極めて重要なことである。しかし、これらの形質は外側から見ることは出来ないため、生体内の様子を観察するには何らかの非破壊的な検査技術が必要である。生体診断技術の一つである超音波診断法は、非侵襲的でありながら精度の高い測定が可能であり、かつ診断機材も比較的コンパクトで取り扱いやすいため、従来から家畜の妊娠鑑定などの分野において利用されてきた。超音波肉質診断は、この技術を産肉形質の生体診断に応用したものであり、肉用牛の産肉生理解明や産肉能力改良への活用が期待される技術である。

2. 超音波肉質診断の原理と問題点

超音波は、物体中を伝わる際に音響特性の異なる境界面で反射される特性がある。物体はそれぞれ固有の音響特性を持ち、これは〔物体の

KAWADA Tomohiro

〒321-3303 栃木県芳賀郡芳賀町稲毛田上の原
1917

密度〕×〔物体を伝搬する音速〕(kg/m²s)で表される。音速は〔体積弾性率〕/〔物体の密度〕の平方根で表されるが、生体組織の密度はほぼ一定であることから、生体の各組織は、物の硬さを示す体積弾性率に応じた音響特性を持つことになる。筋肉組織や脂肪組織、骨組織は微妙に硬さが異なり、境界面は超音波の反射源(エコー源)となることから、生きている肥育牛に直接超音波を照射し、その反射波を捉えて得られた位置情報を画面に輝点としてプロットすることにより、牛体内の断層面を観察することが出来る。超音波肉質診断は、こうして得られた断層像からロース芯やバラ肉などの筋肉の大きさ、脂肪層の厚さ、筋肉内に形成される脂肪交雑などを推定する技術である。特に脂肪交雑は「サシ」とも呼ばれ、牛肉の等級を格付けする上で重要な要素であり、脂肪交雑の多い牛肉は「霜降り肉」として高額で取引される。この脂肪交雑はロース芯内の筋肉組織の間に脂肪細胞が発達して形成されるものであり、品種や血統などの遺伝的影響及び飼養環境などの影響により個体ごとに「サシの入り方」が異なることから、脂肪交雑をいかに発達させるかが肥育技術の一つの目標となっている。超音波診断では、ロース芯内の筋肉組織と脂肪交雑を構成する脂肪組織との境界面がエコー源となることから、診断画像のロース芯内部における白点(輝点)の出現頻度により脂肪交雑の程度が判定可

能であると報告されている¹⁾。しかし、実際に超音波診断によって格付けにおける脂肪交雑基準（BMSナンバー）を判定する場合は、それぞれの技術者が経験的に超音波診断画像と枝肉成績とを対照させることにより得た個々の診断基準に基づいて主観的な判断をしており、技術者の経験や熟練度合いによって診断精度がバラバラである。従って、超音波肉質診断技術の活用を図る上では、脂肪交雑の客観的な判定技術を開発する必要がある。

3. 超音波肉質診断における脂肪交雑判定精度向上への取り組み

超音波肉質診断に関連する研究はこれまで多くの報告が見られるが、ほとんどが肉用牛の肥育診断や能力評価など肉質診断の応用技術に関するものであり、超音波診断の技術や診断精度について検討を行っている研究事例は、本技術の開発初期にいくつか見られるだけであり、近年ではほとんど無い。しかし、栃木県では、平成8年度から超音波肉質診断装置（アロカ社製スーパーアイミートSDD500）計6台を県内の主要農業振興事務所に導入したことから、農業改良普及員が活用を図る上で体系的な超音波診

断技術の確立が求められてきた。そこで、我々は、多数の出荷直前の肥育牛を超音波診断することにより脂肪交雑判定精度の改善を中心とした診断方法の検討を行ってきた。これまでの取り組みによって、脂肪交雑の判定精度を向上させるためには、①正確な位置で測定された良好な診断画像を得ることと、②脂肪交雑基準値ごとの具体的な診断基準を設定し客観的に判定する方法が必要であると考えられる。このため、我々はデジタルビデオによる診断画像保存とその診断画像をコンピューターのモニター上で比較させる方法により診断精度の向上を図るシステムを確立した。図1はその概要を示したものである。以下はこのシステムのポイントとなる事項である。

(1) 診断画像の記録方法

従来、超音波肉質診断画像は感熱紙などにプリントアウトして保存する方法が一般的であったが、超音波診断装置はリアルタイムで断層画像がモニター上に表示されることから、我々はこれを直接デジタルビデオ（DV）に動画像として保存する方法をとっている。従来のプリントアウト方式では、印刷の段階で画像の情報量が大幅に欠落してしまう。DVには非圧縮方式

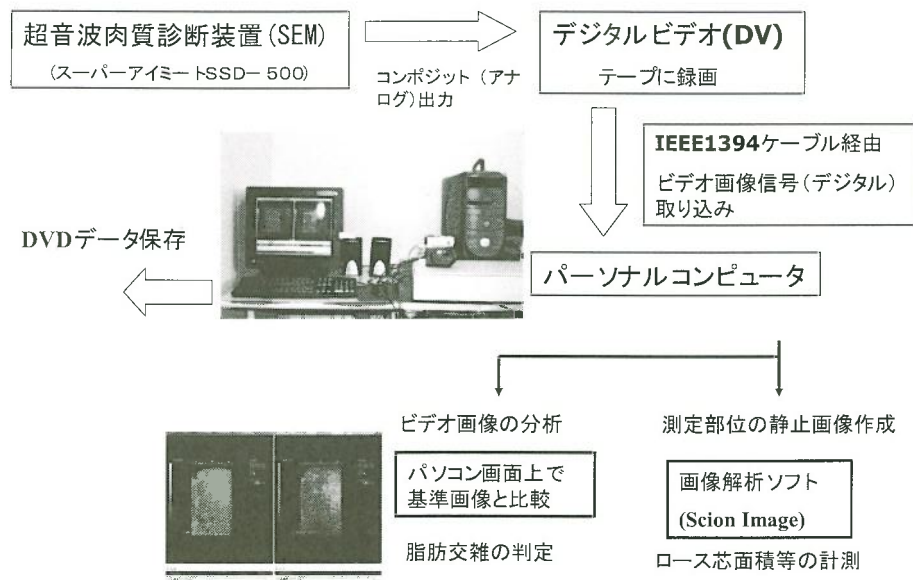


図1 デジタルビデオ画像を用いた超音波肉質診断の概要

のファイルとして画像が記録されることから情報の欠落が非常に少なく、ノイズの少ない画像を保存することが可能である。また、後述するように、静止画像でなく動画で保存することにより、診断画像上の輝点が動く様相を脂肪交雑の判断情報として利用することが可能となる。録画されたDV画像は、個体毎の動画ファイルとしてコンピューター内に保存している。

(2) コンピューター上での診断画像の処理

コンピューターに取り込んだ動画からは、鮮明な静止画像を作成することが出来る。我々はこの静止画像を画像解析ソフトのScion Imageを用いてトレースすることにより、ロース芯面積や皮下脂肪厚などを測定することになっている。このScion ImageはNational Institutes of HealthのWayne Rasband氏が開発したNIH Imageという画像処理ソフトを米Scion社が、Windows OS用に移植し配付しているものであり、画像の計測だけでなく、ヒストグラム解析や各種フィルター処理など市販の高価な画像処理ソフトと同様な機能を持つフリーで入手可能なソフトである。これを用いることにより、高

精度で産肉形質を計測することが出来る。

(3) 脂肪交雑と超音波診断画像との関係

図2は、流動パラフィンを満たした水槽中のロース肉を超音波測定し、牛体内の脂肪交雑の有無が超音波診断画像にどのように反映されるかを模擬的に確認したものである。“a”は脂肪交雑の少ない格付けA-2の肉，“b”は脂肪交雑の多い格付けA-5の肉であり、ロース芯内に脂肪交雑が多い牛肉は、少ない牛肉に対して多くの輝点が診断画像上に表示される。

これをもとに、出荷前1週間以内の肥育牛の超音波診断画像を多数収集し、それらを格付けにおける脂肪交雑基準ごとに分類し、ロース芯内およびその周辺の輝点分布を分析したところ、次のような傾向が見られた。

- ①極端に脂肪交雑が少ない場合は、ロース芯中心部が黒く抜け、その中に輝点が点在して見える。また、ロース芯と周辺とのコントラストが高くなるためロース芯の輪郭が鮮明に判る。
- ②中程度の脂肪交雑では、ロース芯内部の輝点が一様に分布し、周辺とのコントラストが低下する。さらに、もう少し脂肪交雑が多くなると、細かい輝点の中に粒子の大きな明るい輝点が散在するようになる。この

ため、画像の均一性が減少し、ロース芯内の明度差が大きくなる。

- ③脂肪交雑が非常に多くなると、ロース芯内の輝点の明るさは高くなるが、輝点の分布密度の均一性が低くなり、所々に暗い点が見られる。また、ロース芯と周辺との輪郭が不鮮明になる。

当初、我々は脂肪交雑が増加するとエコー源が増加し、診断画像上の輝点数も単純に増加するものと考えていた。しかし、

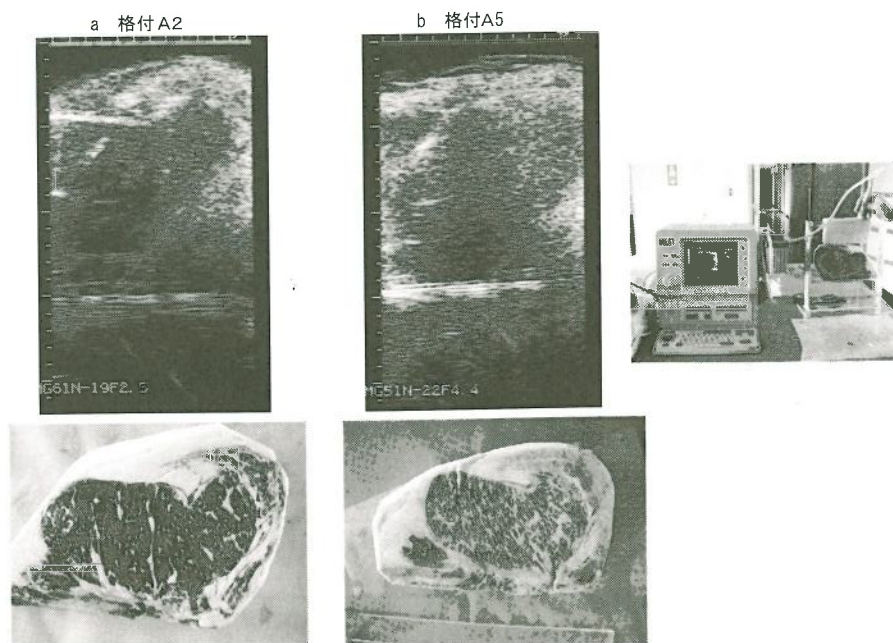


図2 脂肪交雑の発達と超音波画像の相違

診断画像を詳細に検討すると、脂肪交雑の変化と診断画像上の輝点数は単純な相関関係にはないことが判った。脂肪交雑の粒子は、脂肪交雑等級が高くなるに従い単純に数が増えるだけでなく一つずつの粒子の体積も増加する。さらに脂肪交雑が非常に高くなると粒子同士が結合し複雑な形状をとるようになる²⁾。超音波肉質診断に用いる超音波装置の周波数は2 MHzであり、解像度は2 mm～数mmであるため、この解像度より大きな組織は画像上に大きさや形態を直接表示することができるが、これよりも小さな組織は、エコー源としての“点”は表示するものの、形状や大きさは表示できない。診断画像の特性が複雑に変化するの、機器の解像度を境にして脂肪交雑粒子の大きさや形状がエコー像に投影される性質が変化するためと考えられる。また、脂肪交雑が著しく発達した個体の診断録画像を見ると、まるで水飴をかき混ぜているようにゆっくりとした輝点の動きを示す場合がある。これも、ロース芯内の脂肪含有量が極端に高くなったことによる物理特性の変化を表していると考えられる。これについて、宮島³⁾はビデオ録画した超音波診断画像を比較し、動画像における輝点の動きを診断基準に加えて脂肪交雑推定の精度向上が図られたと報告している。

このように、超音波診断画像における脂肪交雑の推定は、単純に輝点数だけで説明出来るものではなく、輝点の分布密度や形状、輝度といった複数の要素を総合的に判断しなければならない。

(4) ビデオ録画像の比較による脂肪交雑推定について

前述のとおり、脂肪交雑の変化と超音波診断画像の特性変化とは、複雑な関係が見られる。そこで、我々は図3のように脂肪交雑等級の変化に伴い特徴的に変化する項目について基準を作成するとともに、脂肪交雑等級が判明している牛の出荷直前の超音波診断画像をビデオ画像ファイルとしてコンピューターに集積し、脂肪交雑等級ごとに基準画像としてデータベース化を行った。実際に肉質診断をする場合には、この診断基準と診断画像のデータベースを用いて図4に示したようにパソコンのモニター上で診断しようとする牛の動画像と基準画像を両方同

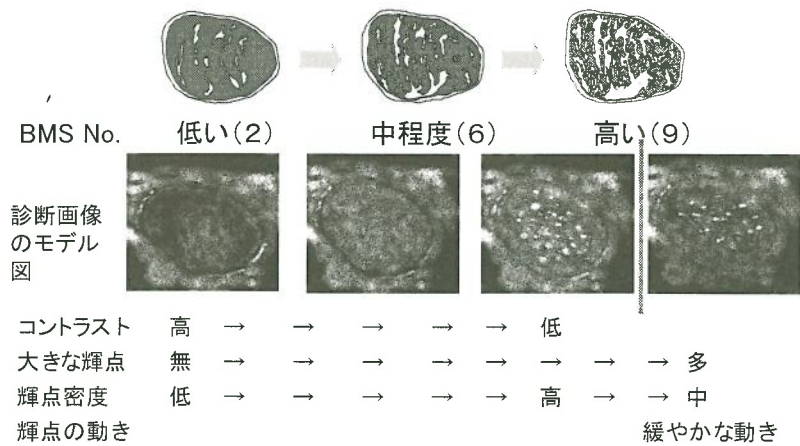


図3 脂肪交雑の変化と診断基準

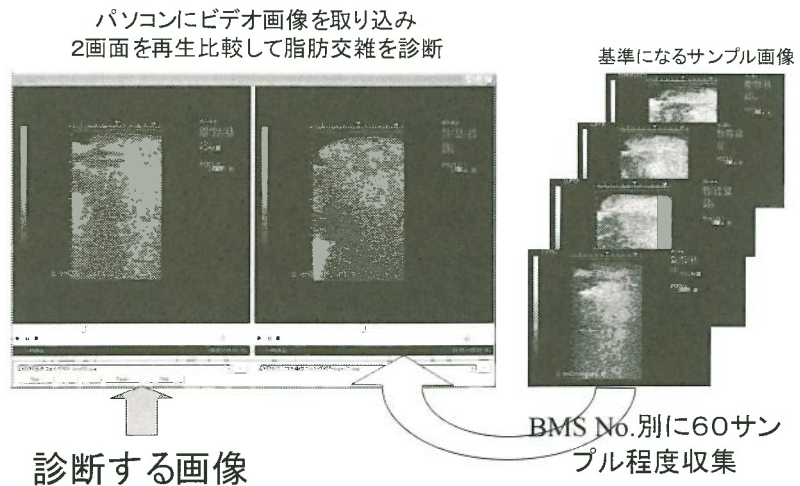


図4 栃木県畜産試験場におけるBMS No.判定法

時に再生し、輝点の分布状況や動きなどの項目を基準と比較して脂肪交雑等級の判定を行っている。この方法でも、輝点の密度や動きなどの特徴を判断するのは技術者であるため、ある程度の習熟は必要であり、完全に客観的な判定方法とはいえないが、この方法によって判定された脂肪交雑等級と実際の枝肉格付け値との間で相関係数0.78 ($P < 0.01$) 程度の推定精度が得られている。

4. 客観的判断への取り組み

現在、我々は、超音波肉質診断における脂肪交雑推定精度をより向上させるため、画像解析手法を用いた診断技術の開発を行っている。この分野については、医療領域において、肝臓や乳房などの超音波診断画像における任意領域をコンピューターにより解析評価し、疾患の判定

を支援する試みが取り組まれている。我々は、この方法を応用し、超音波肉質診断画像内の複数領域を画像評価することにより、これまで人間の目で比較していた画像を客観的に比較することを試みており、ある程度の診断精度を得ることが出来ている。今後は、より高度な解析技術を開発し、超音波肉質診断技術の活用促進を図っていこうと考えている。

文 献

- 1) 原田宏・熊崎一雄 (1979), 日畜会報 50, 305-311
- 2) 口田圭吾ら (1997), 日畜会報 68, 878-882
- 3) 宮島恒晴 (2001), 西日本畜会報 44, 35-42

◀文献情報▶

泌乳牛への脂肪酸給与が卵子の品質や胚発生に及ぼす影響

Impact of Dietary Fatty Acids on Oocyte Quality and Development in Lactating Dairy Cows.

A.A. Fouladi-Nashta¹, C.G. Gutierrez², J.G. Gong³, P.C. Garnsworthy¹, and R. Webb¹

¹The University of Nottingham, United Kingdom,

²UNAM, Ciudad Universitaria, Mexico,

³Roslin Institute, United Kingdom.

Biology of Reproduction, 77, 9-17 (2007)

飼養管理技術の改善と育種改良により、乳牛の泌乳量は著しく増加してきたものの、近年、受胎率の低下が世界的にも問題となっている。飼養管理がうまくいかないと、代謝機能の維持と乳生産に必要なエネルギー量が雌牛が採取可能なエネルギー量を超えるため、特に高泌乳牛においては分娩後に負のエネルギーバランスとなり、分娩後の発情回帰の遅れ、卵子の品質低下を引き起こして受胎率低下や早期胚死滅の増加というような繁殖機能の低下をおこす危険性がある。一方、栄養状態の短期間の変化が、卵胞発育のみならず卵子の形態や発生能力にも影響を与えることが示唆されている。脂肪酸はエネルギーの供給源であるとともに、細胞膜の構成や機能維持のためにも重要な役割をはたしており、ウシ卵子の脂肪酸組成を変えることにより成熟率や胚発生率が改善する可能性も考えられる。

本論文においては、泌乳牛におけるルーメンバイパス脂肪酸の給与レベルが、卵子の発生能に及ぼす影響が検討された。低レベル（200g/日）あるいは高レベル（800g/日）の脂肪（ルーメンバイパス脂肪酸）を添加したサイレージベースの飼料を給餌した22頭の雌牛に発情同期化処置が行われた。1頭あたり3～4日間隔で7回、超音波診断装置を用いた経膈採卵（OPU）を実施し、1,051個の卵子が採取された。

採取卵子は、体外成熟・受精後、体外培養により胚盤胞期まで発生させた。胚の品質は、Day 8の胚盤胞期胚を二重染色することにより評価した。脂肪の高レベル給与は、小卵胞数及び中卵胞数を減少させた。しかし、形態的な卵子の品質や卵割率には、脂肪酸レベルによる差は認められなかった。一方、脂肪の高レベル給与区において、成熟卵（ $P<0.005$ ）あるいは卵割卵（ $P<0.05$ ）に対する胚盤胞期への発生率は低レベル給与区に比べて有意に高まった。脂肪の高レベル給与区由来の胚盤胞期胚における総細胞数、内部細胞塊細胞数、栄養膜細胞数は、低レベル給与区に比べて有意に多かった（ $P<0.05$ ）。回帰分析の結果、低レベル給与区における胚盤胞期への発生率と泌乳量（ $P<0.001$ ）、乾物摂取量（ $P<0.001$ ）、代謝エネルギー摂取量（ $P<0.005$ ）、デンプン摂取量（ $P<0.001$ ）との間に負の相関が認められたが、高レベル給与区では同様の相関関係は認められなかった。低レベル給与区において、胚盤胞期への発生率は、成長ホルモンとは負（ $P<0.05$ ）の、レプチンとは正（ $P<0.05$ ）の相関関係を認めた。以上の結果から、低レベルの脂肪酸給与においては、泌乳量の増加は卵子の発育能力を低下させる可能性が示された。一方、高レベルの脂肪酸給与は、卵子を保護し、卵子の発生能を改善する可能性が示唆された。

近年、牛における受胎率の低下が大きな問題となっている。ルーメンバイパス脂肪酸を添加した餌を給餌することにより、泌乳牛における卵子の発生能を高めうる可能性が示唆されたが、高泌乳牛の受胎率を改善していくためにも、栄養と繁殖機能の関係をさらに検討し、より適切な飼養管理技術を開発していく必要がある。（抄訳：下司雅也，GESHI Masaya，独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所）

◀文献情報▶

ブラシノステロイドのシグナル伝達で働くBAK1は、フラジェリンによる誘導でFLS2と複合体を形成し、植物の防御反応を開始する

A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence

Delphine Chinchilla, Cyril Zipfel, Silke Robatzek, Birgit Kemmerling, Thorsten Nürnberger, Jonathan D. G. Jones, Georg Felix & Thomas Boller

Zurich-Basel Plant Science Center, Botanical Institute, University of Basel, Switzerland

Nature Vol. 448, 497-501, 26 July, 2007

植物は、パターン認識受容体を使って病原体関連分子パターン (PAMP) を認識し、侵入微生物を感知する。シロイヌナズナでは、ロイシンリッチリピートを持つ受容体キナーゼ (flagellin-sensitive 2) FLS2と伸長因子Tu受容体 (EFR) が、細菌のPAMPであるフラジェリンと伸長因子Tu (EF-Tu) を認識するパターン認識受容体 (PRR) として働き、病原菌に対する抵抗性に役立っている。しかし、受容体の活性化と細胞内のシグナル伝達を結びつける分子機構については、ほとんど解明されていない。本論文では、ロイシンリッチリピートを持つ受容体キナーゼ (LRR-RLK) でブラシノステロイド受容体BRI1を調節することが報告されているBAK1 (BRI-associated kinase 1) が、FLS2とEFRによるシグナル伝達に関わっていることを明らかにしたものである。

シロイヌナズナにおいてフラジェリンがFLS2やEFRに加えて幾つかのLRR-RLKを誘導することが知られていた。そこで、逆遺伝学的にこれらのLRR-RLKに対する変異体を得て、フラジェリンに対する応答の低下したものを選抜した。選抜された変異体は、ブラシノステロイドのシグナル伝達に関わる遺伝子BAK1にT-DNAが挿入されており、BAKのmRNAが検出されなくなっていた。この*bak1*変異体では、

ブラシノライドを過剰に加えると、成長は回復し、野生型との差は見られなくなったが、フラジェリンへの応答性は回復しなかった。一方、ブラシノステロイド合成系の突然変異体はフラジェリンへの応答性を保持していた。このことから、ブラシノステロイドとフラジェリンとのシグナル伝達経路は独立であることが示された。さらに*bak1*変異体でもFLS2の発現量やFLS2とフラジェリンとの結合は正常であったため、BAK1はリガンドと受容体の結合を調節するものではないと考えられた。そこで、BAK1とFLS2との結合を調査するため、MycとBAK1の融合タンパク質を植物で発現し、フラジェリン存在下と非存在下で抗FLS2抗体や抗Myc抗体を用い、免疫沈降を行った。その結果、この二つのキナーゼは、フラジェリン存在下で特異的にヘテロ二量体を形成することが明らかとなった。また、フラジェリンやブラシノステロイドは直接BAK1に結合することがないため、FLS2やBRI1がリガンドと結合した後にBAK1が結合し、それぞれの受容体の機能が活性化すると考えられた。このように、BAK1は、植物ホルモン受容体BRI1を介して発生の調節にかかわるだけでなく、PRRに依存したシグナル伝達にも機能しており、自然免疫応答を開始する。ただし、BRI1とFLS2によって引き起こされる生理学的な反応は大きく異なっている。そのため、BAK1はおそらく、シグナルの特異性を決定づけるものではなく、むしろ、多くの受容体の調節に関わるアダプターのような一般的な役割を持つのではないかと思われる。また、最近、*bak1*突然変異体では真菌に対する罹病性も変化していることが報告されており、BAK1はFLS2やEFR以外のPRRの調節にも関わっている可能性がある。

(抄訳：久保山勉, KUBOYAMA Tsutomu, 茨城大学農学部)

◀文献情報▶

HIV-1抗ウイルス薬Cyanovirinを分泌する乳酸バクテリアについて

Bioengineering lactic acid bacteria to secrete the HIV-1 virucide cyanovirin.

Pusch O, Boden D, Hannify S, Lee F, Tucker LD, Boyd MR, Wells JM, Ramratnam B.

Center of Anatomy and Cell Biology, Laboratories of Genome Dynamics, Medical University of Vienna, Vienna, Austria.

J Acquir Immune Defic Syndr. 2005 Dec 15; 40 (5) : 512-20.

後天性免疫不全症候群（エイズ）はヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染によって発症し、高い発症率・死亡率を示す。特に発展途上国においては深刻な問題となっている。HIVの感染にはヘルパーT細胞やマクロファージ表面膜に存在するCD4分子と補助因子（ケモカイン受容体CXCR4とCCR5）を認識して付着する。免疫系の司令塔であるヘルパーT細胞のダメージにより宿主免疫機構が崩壊する。最近の研究では粘膜ドラッグにおけるデリバリーのキャリアとして組換え乳酸菌の有用性が示されている。著者らは抗ウイルス化合物であるcyanovirin (CV-N) を菌体外に分泌する乳酸菌を作成し、抗HIV-1活性を評価した。CV-NはHIVウイルスの外被の高マンノース型糖鎖に結合し、HIV-1感染時の細胞への接着を妨げる事で抗ウイルス活性を示すと考えられている。事実、マカクザルでの*in vivo*研究ではサルエイズの感染を防ぐ事が明らかになっている。

著者らは、以前*L. lactis*におけるタンパク発現ならびに分泌系を構築した。この際に用いたpTREX1ベクターならびにその類縁体ベクター(pTSV-1とpTSV-2)をエレクトロポレーション法により*L. lactis*と*L. plantarum*に組み込み、CV-Nの発現・分泌の系を構築した。細胞内発現にはpTSV-1ベクター(pTSV1-CVN)を、分泌発現にはUsp45 leader配列を組み込んだpTSV-2ベクター(pTSV2-CVN)を用いてい

る。感染性分子クローンであるHIV-1_{NL4-3}を添加したCD4⁺ H9細胞にコントロールベクター(pTSV-1)とpTSV1-CVNを組み込んだ*L. lactis*培養液から抽出したタンパク質の共存下に細胞培養上清中のHIV-1 p24 (キャプシド) 抗原量をELISA法により測定した。この結果pTSV1-CVNを組み込んだ乳酸菌の生産タンパク質によって有意にHIV-1 p24が減少していた。

次にpTSV-2配列にプロペプチド配列(DTNSD)を挿入したベクター(pTSV2-D-CVN)とさらにコドン最適化(N末側に負の電荷のアミノ酸を挿入)を加えたベクター(pTSV2-D-CVNco)によって構築した分泌組換え乳酸菌による検討を行った結果、プロペプチド配列挿入に加えてコドン最適化を行うことで分泌タンパク質の増加が確認された。HIV-1 Env-pseudotyped luciferase reporter virusであるNL-Luc/HXB2envを感染させたMT4細胞とPMBCs細胞に、pTSV2(コントロール)、pTSV2-D-CVN、pTSV2-D-CVNcoベクターを組み込んだ*L. plantarum*培養液の上清を添加し、ルシフェラーゼ測定(p24抗原量)を行った。コントロールと比較してpTSV2-D-CVNcoベクターを組み込んだ乳酸菌の抗HIV-1活性が最も高いことが判明した。

以上の結果より、CV-Nを発現・分泌する組換え乳酸菌の構築に成功し、HIV-1に対する抗ウイルス活性を*in vitro*で確認することが出来た。乳酸菌の新たな生命工学的な用途を開拓することが出来たと考えている。近年、人の膣から単離した*L. jensenii*に対してHIV-1レセプター類縁体である2D CD4(*in vitro*においてHIV-1 gp120に結合し感染力を減少させる)を分泌させた報告もある事から、今後、遺伝子組換え乳酸菌に関する知見がさらに集積され、抗ウイルス薬としての組換え乳酸菌の研究開発が進捗していくものと考えられる。

(抄訳：芦田延久, ASHIDA Nobuhisa, カルピス株式会社 健康・機能性食品開発研究所)

◀文献情報▶

イガイとヤモリにヒントを得た着脱可能な水中接着因子

A reversible wet/dry adhesive inspired by mussels and geckos

Haeshin Lee¹, Bruce P. Lee⁴ & Phillip B. Messersmith^{1,2,3}

¹Biomedical Engineering Department, ²Material Science and Engineering Department, ³Institute for BioNanotechnology in Medicine, Northwestern University, Evanston, Illinois, 60208, USA. ⁴Nerites Corporation, 525 Science Drive, Suite 215, Madison, Wisconsin 53711, USA.

Nature, 448, 338-341 (2007)

水の中で二つのものをくっつける“水中接着”の技術は、細胞培養の足場づくりや核酸の固層化等の基礎研究での利用から、外科手術や歯の治療等、医療現場まで非常に高い応用性が期待されるものの未だ技術として確立されていない。米国ノースウェスタン大学のMessersmith博士らは、二つの異なる生物の接着因子の性質を利用して「ゲッケル (geckel)」という水中接着材を開発し*Nature*に発表した。

geckelの名は、ヤモリ (gecko) とイガイ (mussel) に由来している。周知の様にヤモリは壁を地面に垂直な方向へすいすいと登ることができる。これは、彼らの足の表面に存在する剛毛中のナノ構造によって生じるファンデルワールス力のような二次的な弱い結合力によって可能になるものとされている。この構造を模倣した接着材料がこれまでに開発されてきたが、乾燥状態でしか接着性を示さず、ほんの数回しか着脱が出来ないといった欠点があった。

これに対してイガイは、接着能を有するタンパク質を分泌し、自身を水中で岩場につなぎとめておくこと出来る。このタンパク質は、その分子内にカテコールタイプのアミノ酸であるDOPA (dihydroxyphenylalanine) を大量に含んでいる。水中の実験でDOPAは、単独で固体表面に対して強力かつ着脱可能な結合をすることが示されており、低分子としては酸化物表面

から解離させるために要する力がこれまで観察された中で最も大きいとされている。

Messersmith博士らは、この両者の長所を結びつけた全く新しい接着材を作り出した。すなわちヤモリの剛毛構造に似た材質を作り出し、イガイの接着タンパク質中に含まれるカテコールポリマーでこれをコーティングした。これによって水中で着脱可能な接着が期待できる。

彼らは、PDMS (polydimethylsiloxane) を基盤素材に用いて、レーザーリソグラフィ技術により中心間隔が1~3 μmで直径400nm、高さ600nmの柱状構造を無数にスポットした材質を作り出した。さらにこれをp(DMA-co-MEA) (poly(dopamine methacrylamide-co-methoxyethyl acrylate) でコーティングした。p(DMA-co-MEA) を選んだ理由は、この分子がカテコール類の多量体であり、疎水性が強いためである。持続性の高い耐水性の接着には低溶解性のポリマーであることが必要とされている。

こうして出来上がった接着材ゲッケルは、コーティングなしの基盤に比べて、乾燥条件で約3倍、水中では約15倍もの接着強度を示すようになった。試験では主にSi₃N₄に対する接着性を見ているが、酸化チタンや金についても接着性を示すことが示されている。ただ接着力の強さは相手によって異なるようである。さらにゲッケルは、水中で1100回の着脱を重ねても85%の接着能を維持できる (乾燥中では98%)。

博士らは、今回の測定を非常に小さいスケール (数個の柱状ナノ構造への粘着性で測定) で行っており、これをスケールアップしたとき今回の結果がそのまま得られるかは分からない。しかしながら、理論上では水中で1cmあたり9Nの接着力 (90kPa) が見積もられ、これは不思議なことにヤモリ剛毛でえられた接着力と似通った値になる。今後は柱状構造の配置位置、間隔および材質、さらにはp(DMA-co-MEA) に代わる多量体の開発が研究発展のキーポイントになる。

(抄訳：足立亨介, ADACHI Kohsuke, 日本水産株式会社 中央研究所)

生研センターからのご案内

平成19年度 生研センターUR 対策現地検討会
「環境に配慮した土づくりと土壌分析技術」

主 催： (独)農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター
後 援： (独)農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター
協 力： 農事組合法人和郷園、関東化学(株)、(株)島津製作所、(株)島津理化、(株)藤原製作所

開催日： 平成19年11月9日(金)

集合時間・場所： 午前9時00分(貸切バス出発)・東京駅鍛冶橋駐車場

見学会場： 農事組合法人和郷園小見川農場(千葉県香取市油田1191)

検討会場： 農事組合法人和郷園本部(千葉県香取市新里1020) <http://www.wagoen.com/main.html>

開催内容：

I. 現地見学会 ----- 11時00分～12時10分

場所：農事組合法人和郷園 小見川農場

II. 技術検討会 ----- 13時00分～16時00分

1. 和郷園におけるエコ農産物への取り組み

農事組合法人 和郷園 代表理事 木内博一

2. 環境に配慮した土づくり

中央農業総合研究センター 研究管理監 木村 武

3. 環境に配慮した土壌診断・土壌分析技術

全国農業協同組合連合会 営農・技術センター肥料研究室室長 森國博全

4. 健康な土づくりと土壌分析機器(UR研究成果含む)

(株)島津製作所、(株)島津理化、(株)藤原製作所、関東化学(株)

5. 総合討論

申込み方法

平成19年10月19日(金)までに、必要事項(連絡先、氏名、部署・役職名、貸切バス利用の有無、昼食の利用の有無)を記入したEメール(ktsuga@affrc.go.jp)、又はFAX(03-3459-6577)にてお申し込み下さい。受付後、参加登録番号をお知らせ致します(定員80名)。

なお、参加申し込み等詳細は、<http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/>にて、「新着情報」の「平成19年度生研センターUR対策現地検討会について」をご覧ください。

問い合わせ先

生物系特定産業技術研究支援センター UR対策研究開発成果普及業務担当

プロジェクトリーダー 津賀幸之介 E-mail: ktsuga@affrc.go.jp

TEL: 03-3459-6568 FAX: 03-3459-6577

〒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)



ブレインテクノニュース
バックナンバーのご案内
第122号
2007年7月15日発行

総説

致死性人獣共通感染症，狂犬病の研究に関する歴史・現状・今後の展開……………源 宣之

国内情報

デンブリン合成酵素の変異を利用して開発された甘味種コムギ……………中村 俊樹・新畑 智也・齊藤 美香
ジベレリンを不活性化する新しい酵素を発見—植物の大きさを制御……………山口 信次郎

シロアリセルラーゼの微生物生産—シロアリ消化系のバイオマス変換への応用を目指す……………渡辺 裕文
エゾアワビのゲノム連鎖地図の作成……………関野 正志・原 素之
農業機械のユニバーサルデザイン……………菊池 豊

文献情報

有糸分裂中のマウス受精卵への染色体移植後の発生のリプログラミング……………(抄訳：下司 雅也)
葉から茎頂へ伝達され花を誘導するシグナルの正体はFTタンパク質である……………(抄訳：久保山 勉)
リーシュマニアの代謝と毒性におけるメチレンテトラヒドロ葉酸リダクターゼの解析……………(抄訳：金井 宗良)
CD36は，口腔感覚系における食物油の検知と自然誘発的な脂肪の好みそして消化分泌に関与する…(抄訳：下野 将司)



ブレインテクノニュース
バックナンバーのご案内
第121号
2007年5月15日発行

総説

植物の誘導抵抗性—広範な病原体に有効な植物独自の自己防御システム……………高橋 英樹

総説関連情報

植物の全身獲得抵抗性……………瀬尾 茂美・光原 一朗
植物の誘導全身抵抗性……………有江 力
ジーンサイレンシングによる植物のウイルス抵抗性……………増田 税

国内情報

アカネズミが有するタンニン無害化メカニズムを解明……………島田 卓哉・齊藤 隆・大澤 朗
ブタにおいて椎骨数を増大させ体を長くした遺伝子の解明……………美川 智

繋ぎ飼い飼養における新酪農システム実証試験……………道宗 直昭・志藤 博克・高橋 仁康・平田 晃・後藤 裕・川出 哲生・原田 泰弘・皆川 啓子・山名 伸樹

地域の先端研究

LAMP法と黄化葉巻病常発地域を活用した抵抗性トマトの選抜技術の確立……………福田 至朗・加藤 政司・穴井 尚子・矢部 和則

文献情報

体細胞核移植後のトリコスタチンA処置によるクローズドコロニーマウスのクローン作出……………(抄訳：下司 雅也)
Gタンパク質連結型ABA受容体の発見……………(抄訳：久保山 勉)
乳酸菌のS-layerタンパクを被覆したリポソームの特徴づけ……………(抄訳：芦田 延久)
シロアリに共生している原生生物は，やはりセルラーゼ産生に関与している……………(抄訳：鈴木 賢一)

編集後記

123号をお届けします。本号では、「最近の β -クリプトキサンチン研究の動向」を特集に取り上げ、生駒吉識氏及び杉浦実氏（果樹研究所）にウンシュウミカンで特異的に β -クリプトキサンチンが多量に集積する生合成調節機構、及び疫学研究から明らかになった多様な生理機能について、それぞれご執筆戴きました。

その他の研究情報としては、玉置祥二郎氏（奈良先端科学技術大学院大学）らにイネの花成ホルモン Hd3a、越智幸三氏（食品総合研究所）に微生物の「休眠遺伝子」活性化による抗生物質などの作出技術、喜田宏氏（北海道大学）に鳥とヒトのインフルエンザワクチン株ライブラリー、土田耕三氏（国立感染症研究所）らにカイコが黄色の繭を作るメカニズムの解明、宮原佳彦氏（生研センター）に乗用型水田用除草機を利用した水田内複合除草技術、川田智弘氏（栃木県畜産試験場）にデジタルビデオ録画像の利用による牛超音波肉質診断の脂肪交雑推定精度の向上について、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）、久保山勉氏（茨城大学）、芦田延久氏（カルピス（株））、足立亨介氏（日本水産（株））にご執筆戴きました。

ご多忙な中玉稿をお寄せ戴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。

生研センター 業務のご案内

～研究開発を強力に支援いたします～

提案公募型の委託研究制度

- 民間企業の実用化段階の研究支援なら 民間実用化研究促進事業
- 基礎研究のご提案なら 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業
- 異分野の共同研究や起業化を目指すなら 生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業

その他の支援制度

- 「共同研究先のあっせん」、「遺伝資源配布先のあっせん」などもお気軽にご相談下さい。

詳細は、生研センター企画部企画第1課までお問い合わせください。

ブレインテクノニュース 第123号

平成19年9月15日発行

発行人 朝比奈 清

編集人 加藤 俊典

発行所 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

◎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