

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

平成21年1月15日（隔月1回15日発行）
ISSN 1345-5958

TECHNO NEWS

No.131

15 JANUARY, 2009

ブレインテクノニュース

はやまさり



準同質遺
伝子系統



Italica
Livorno



低温発芽性の様子

イネで低い温度でも発芽を向上させる遺伝子を発見 — 乾燥や塩害などのストレスでも同様の役割

ホクレン農業協同組合連合会
藤野 賢治



親ガニ(雌)



プレゾエア



第1齢ゾエア



第2齢ゾエア



メガロバ



稚ガニ

ズワイガニの生活史

長年の研究が実る!ズワイガニの稚ガニ量産に一步前進

独立行政法人 水産総合研究センター 小浜栽培漁業センター
山本 岳男・藤本 宏・山田 達哉・高橋 庸一

目 次

総 説

- 幼若ホルモンネットワーク遺伝子の解明と制御 1
 篠田 徹郎 ((独)農業生物資源研究所 昆虫科学研究領域)

国内情報

- イネで低い温度でも発芽を向上させる遺伝子を発見 - 乾燥や塩害などのストレスでも同様の役割 7
 藤野 賢治 (ホクレン農業協同組合連合会)
- 米の古米臭の原因となる酵素の有無を判別するDNAマーカーの開発 11
 鈴木 保宏 ((独)農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所)
- 味覚センサーを用いた緑茶の滋味(味わい)の客観的評価技術 17
 林 宣之 ((独)農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所)
- マダニの飢餓耐性機構に必要なオートファジー遺伝子の同定 22
 藤崎 幸蔵・白藤(梅宮)梨可 (鹿児島大学 農学部 獣医学科)
- 長年の研究が実る!ズワイガニの稚ガニ量産に一步前進 26
 山本 岳男・藤本 宏・山田 達哉・高橋 庸一 ((独)水産総合研究センター 小浜栽培漁業センター)
- 加工食品中の「えび・かに」に由来するアレルギー原因物質の混入を短時間で検出する簡易キットの開発 31
 田中 誠司 (日水製薬株式会社 マーケティング部)

地域の先端研究

- タバココナジラミバイオタイプQによるサヤインゲン白化莢の発生 37
 上門 隆洋・大藪 正史 (鹿児島県農業開発総合センター)

文献情報

- Busulfanの徐放性エマルジョンによるレシピエント胚の不妊化処理により、キメラ生殖巣のドナー由来始原生殖細胞の割合が増加する 41
 Y. Nakamura et al. (*Reproduction, Fertility and Development*, 20, 900-907, 2008) 抄訳: 下司 雅也
- 特定の転写因子の発現によりトマト果実の健康促進アントシアニン含量が増加する 42
 E. Buteli et al. (*Nature Biotechnology*, 26, 1301-1308, 2008.) 抄訳: 高田 美信
- 微生物の共生因子は腸の炎症性疾患を防止する 43
 Sarkis K. et al. (*Nature*, 453, 620-625, 2008) 抄訳: 若井 丈人
- キチンはアレルギーに関連する先天性免疫細胞の組織集積を誘導する 44
 T. A. Reese et al. (*Nature*, 407, 92-96, 2007) 抄訳: 飯島 学

表紙の説明

(上図) DNAマーカー選抜により、「Italica Livorno」から*qLTG3-1*(単離・同定された低温発芽性をとくに高くする遺伝子)を「はやまさり」(従来品種)へ導入した準同質遺伝子系統は、「はやまさり」と比して明らかに高い低温発芽性を示した。

(下図)ズワイガニの稚ガニ量産にとって、メガロバ期における大量減耗と飼育条件の未解明がネックになっていた。そこで、基礎試験でメガロバ脱皮時の大量減耗の原因が水槽底の汚れであることを明らかにして防除方法を開発し、さらにメガロバ期の飼育に適した水温を明らかにした。

詳細については、それぞれ7頁及び26頁をご覧ください。

◀ 総 説 ▶

幼若ホルモンネットワーク遺伝子の解明と制御

独立行政法人 農業生物資源研究所
昆虫科学研究領域 制御剤標的遺伝子研究ユニット
篠 田 徹 郎

著者らはカイコやコクヌストモドキのゲノム情報や形質転換技術、RNAi等を利用して、昆虫固有のホルモンである幼若ホルモン（JH）の合成・輸送・分解・シグナル伝達に関わる遺伝子（JHネットワーク遺伝子）の網羅的同定と機能解明を進めている。本稿では、そのうち前期JH合成酵素遺伝子群の網羅的同定、後期JH合成酵素であるJH酸メチル基転移酵素（JHAMT）、およびJHシグナル伝達遺伝子である *Krüppel homolog 1* (*Kr-h1*) の機能解析について説明する。また、これらの遺伝子を利用したJHアゴニストやアンタゴニストのスクリーニング法の開発への取り組みについて紹介する。

1. はじめに

幼若ホルモン（Juvenile hormone; JH）は、昆虫の脱皮・変態、生殖、休眠、相変異など、さまざまな生理現象の制御に関わる重要なホルモンである。化学構造的にも、セスキテルペン骨格を持ち、昆虫以外には存在しないユニークなホルモンである（図1）。このことは、昆虫にはJHの生合成、分解、輸送や作用発現に関わる特殊な分子が多数存在することを意味する。ここでは、そのような分子をJHネットワーク分子、そしてそれらをコードしている遺伝子をJHネットワーク遺伝子と呼ぶ（図1）。JHネットワーク分子の機能を阻害する物質は昆虫だけに選択的に作用し、ほ乳動物には悪影響を及ぼさない昆虫成長制御剤（Insect Growth Regulator; IGR）となる可能性がある。近年は、標的害虫にのみ作用し、天敵昆虫や農生態系中のいわゆる“ただの虫”を殺さない環境保全型の薬剤が求められている。JHの構造は昆虫のグループによっても異なるため、昆虫種間のJH生合成酵素やJH受容体の性質・構造の違いに基づき、特定の害虫（例えばカメムシ類）にだけ作用するIGRの開発もできるかもしれない。このように、

SHINODA Tetsuro

〒305-8634 茨城県つくば市大わし1-2

JHネットワーク分子は害虫防除への応用面でもたいへん重要である。しかし最近までその実体が不明なものが多かった。

最近になって、生物研を中心にしてカイコのゲノム情報が解読され、マイクロアレイや形質転換技術などの機能解析ツールが開発されたことで、JHネットワーク遺伝子研究に新たな展望が見えてきた。また、貯穀害虫であるコクヌストモドキがJHネットワーク遺伝子の研究にたいへん好適なことがわかってきた。本種もまたゲノム解読が終了し、変態におけるJHの作用が明瞭である。さらに胚、幼虫、蛹、成虫のどのステージでも、標的遺伝子の二本鎖RNAを注射することで、容易に遺伝子をノックダウンして機能を調べることが可能である。そこで私達は現在、カイコとコクヌストモドキを主な研究材料として、JHネットワーク遺伝子の網羅的な同定と機能解析を進めている。ここでは、そのうちJH合成酵素遺伝子群とJHシグナリング分子について最近の研究成果を紹介する。

2. カイコゲノムを利用した前期JH生合成経路酵素遺伝子の網羅的解析

昆虫の脱皮・変態は、基本的に2種類の昆虫ホルモン、脱皮ホルモン（エクダイソン）とJH

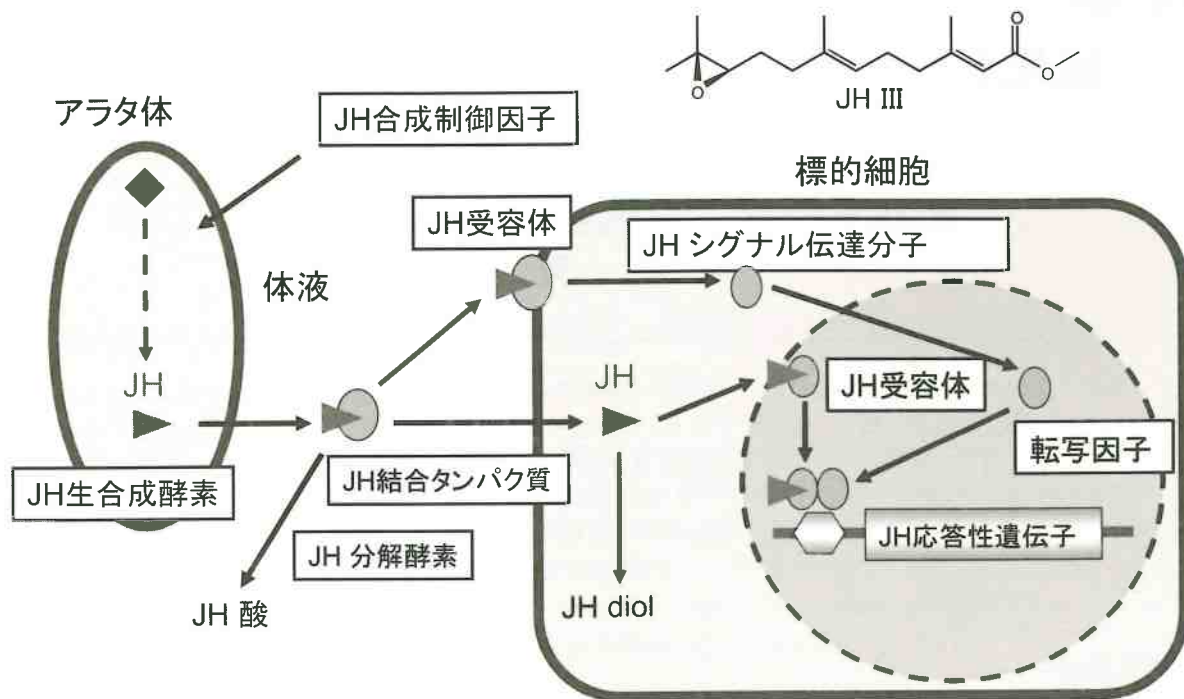


図1 JHの構造とJHネットワーク遺伝子

によって制御されている。若齢幼虫のアラタ体はJHを継続して合成して、体液中に分泌しており、そこにエクダイソンが作用することで、幼虫→幼虫脱皮が繰り返す。ところが終齢幼虫になるとアラタ体はJH合成を停止して、体内からJHが消失する。この状態で、エクダイソンが作用すると今度は、幼虫→蛹、さらに蛹→成虫へと変態がおきる。この機構はクラシカルスキームと呼ばれ一般にも良く知られているが、変態に伴うアラタ体のJH合成活性変動がどのような機構によって制御されているのかについては良くわかっていなかった。

JH合成の制御機構を明らかにするためには、まずJHがどのようにして合成されているのかを知ることが必要である。生化学的な先行研究から、JH合成経路はコレステロール合成と同じ前期経路(メバロン酸経路)と、JH合成に特異的な後期経路から成ることがわかっていたが、それらの酵素をコードする遺伝子はほとんど特定されていなかった。私達はカイコゲノム情報を利用して、前期経路の酵素をコードする遺伝子を全て同定し、そのcDNAを単離した(図

2) 1)。その結果、各酵素に対応する遺伝子は基本的に一種であるが、ファルネシルピロリン酸シターゼ遺伝子(FPPS)は例外的に3種類あることがわかった。ヒトやショウジョウバエなど多くの生物ではFPPSは1種類しか存在せず、これはカイコゲノムに特徴的で興味深い。通常、昆虫は1種類しか(JH III)合成しないのに対し、カイコなどの鱗翅目昆虫は、複数種のJH(JH 0, I, II, III)を合成することが知られており、そのために複数種のFPPSが使われていることが示唆された。

アラタ体における前期酵素遺伝子の発現レベルとJH合成活性レベルには一定の相関関係が認められたが、JH合成が完全に停止する5齢中期～蛹中期にかけてもいずれの遺伝子にも多少の発現が見られた¹⁾。したがって、前期酵素遺伝子群の発現レベルだけではJH合成レベルを完全には説明できない。次に説明するように、変態時におけるJH合成レベルの制御には、JH酸メチル基転移酵素(JHAMT)の遺伝子発現調節がより重要なことがわかってきた。

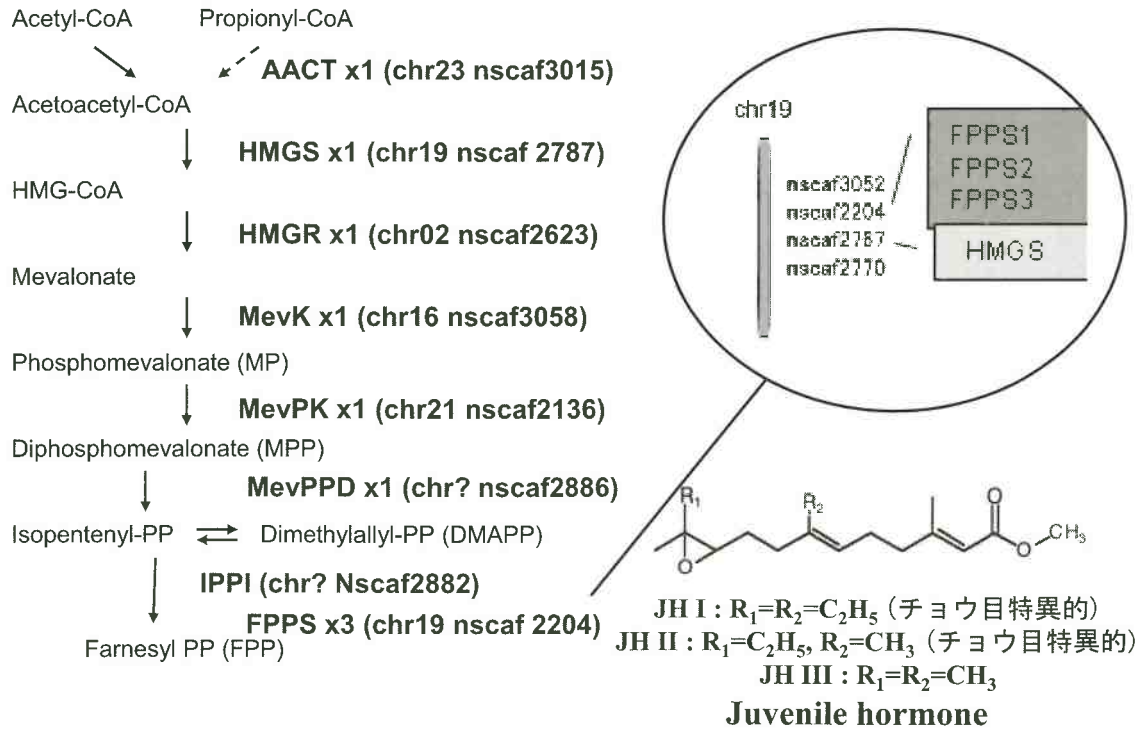


図2 カイコゲノム情報に基づく前期JH合成経路遺伝子の網羅的同定
各ステップの酵素遺伝子の略称と個数。括弧内はクロモゾーム番号とスキファールド番号を示す。

3. JHAMT 遺伝子の機能解析

JHAMTは、JH生合成の最終段階でJH酸やファルネセン酸 (FA) をメチル化し、JHを生成する酵素である。アラタ体にJHAMTが存在することは早くからわかっていたが、きわめて微細なアラタ体から酵素を精製することは非常に困難なため、その分子の実体は長いこと不明であった。私達はディファレンシャルディスプレイ法を用いて、JH合成の盛んな4齢幼虫のアラタ体で発現するが、JH合成の停止した5齢幼虫のアラタ体では発現していない遺伝子を探すことで、JHAMT遺伝子をクローニングすることに初めて成功した²⁾。JHAMT遺伝子はアラタ体に限定的に発現しており、脱皮・変態におけるJHAMT遺伝子の発現パターンはJH合成活性と非常に良く一致することから、同遺伝子は変態におけるJH生合成のキーエンザイムであると予想された。

個体レベルで、JHAMT遺伝子の機能を明らか

にするために、コクヌストモドキの相同遺伝子を単離し、RNAiによる機能解析を試みた。若齢幼虫にJHAMTの二本鎖RNAを注射したところ、早熟変態が誘導されて小型の蛹となった³⁾ (図3)。また、この早熟変態はJHを塗布することによって回復した。このように、実際にJHAMT遺伝子の発現を停止することで変態を誘導することが可能なことから、JHAMT遺伝子はJH合成制御のキーエンザイムであり、幼虫形質の維持に必須であることが確認された。

4. 幼若ホルモン作用発現における Krüppel homolog 1 の役割

上述したように、JH存在下でエクダイソンが作用すると、幼虫脱皮が繰り返されるが、JH不在下でエクダイソンが作用すると変態が誘導される。言い換えれば、エクダイソンは幼虫特異的遺伝子群→蛹特異的遺伝子群、さらに蛹特異的遺伝子群→成虫特異的遺伝子群へと、大規模な遺伝子発現のスイッチングを誘導し、JHは

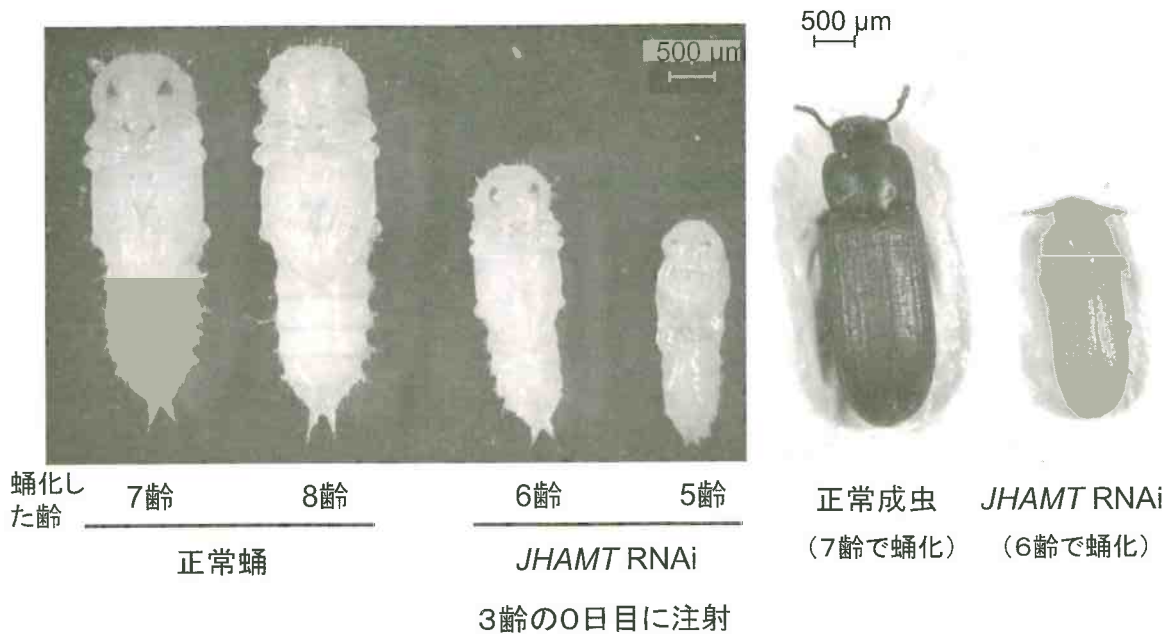


図3 *JHAMT* RNAiによる早熟変態の誘導

*JHAMT*遺伝子をノックダウンすると小型の蛹になり、さらに小型の成虫ができる。

このエクダイソンによる遺伝子スイッチングを阻害する作用がある。エクダイソンの分子作用機構は、ショウジョウバエを用いて詳細に明らかにされているが、JHについてはほとんどわかっていなかった。

最近私達は、*Krüppel homolog 1* (*Kr-h1*) 遺伝子をコクヌストモドキから単離し、これが変態におけるJHシグナリングに重要な機能を持つことを明らかにした⁴⁾。同遺伝子の発現は幼虫期にJHによって維持されており、蛹期になり体内からJHが消失すると発現が停止する。RNAiによって若齢幼虫期に*Kr-h1*遺伝子をノックダウンすると*JHAMT*と同様に早熟変態が誘導される(図4)。また、蛹初期にJHを外から投与すると、成虫化が妨げられて二次蛹が誘導されるが、この時に*Kr-h1*遺伝子も再誘導される。ところが、あらかじめ前蛹期に*Kr-h1*の二本鎖RNAを注射してRNAiを行った場合、JH投与による二次蛹の誘導が起こらず、ほぼ正常な成虫発育が起こる。これらの結果から、*Kr-h1*遺伝子はJHによって発現誘導され、変態抑制シグナルを伝達する重要な媒介因子であ

ることが明らかになった。さらに、*Kr-h1*遺伝子は、JH受容体の候補遺伝子である*Methoprene tolerant* (*Met*) 遺伝子の下流で働き、また蛹期においては蛹化決定因子である*Broad*遺伝子の発現を誘導することが明らかになった。これらの結果に基づき、変態におけるJHのシグナル伝達機構の新たなモデルを提唱した(図5)。

5. 新規IGR開発への幼若ホルモンネットワーク遺伝子の利用

前述したように、コクヌストモドキにおいて*JHAMT*遺伝子をノックダウンすると早熟変態が起こることから、*JHAMT*阻害物質は早熟変態を誘導するIGRとなる可能性が高い。*JHAMT*組換えタンパク質は大腸菌を用いて容易に作製することが可能であり、これを用いて多数の阻害物質を試験管内でスクリーニングすることができる。すでに、コクヌストモドキ以外にも、多くの害虫種から*JHAMT*遺伝子を同定しており、今後それらを用いて各害虫種に特異的な阻害剤が見つかることが期待される。

コクヌストモドキ4齢幼虫0日に *TcKr-h1* dsRNAを注射

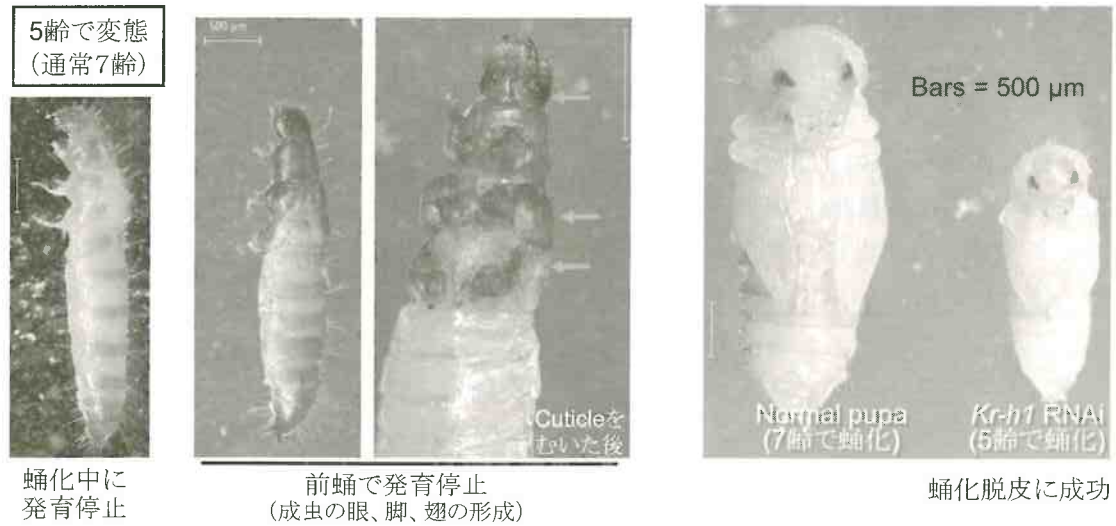


図4 RNAiによる *Kr-h1* 遺伝子の機能解析

Kr-h1 遺伝子をノックダウンすると早熟変態が起こる。全て蛹化途中または蛹化後に死亡する。

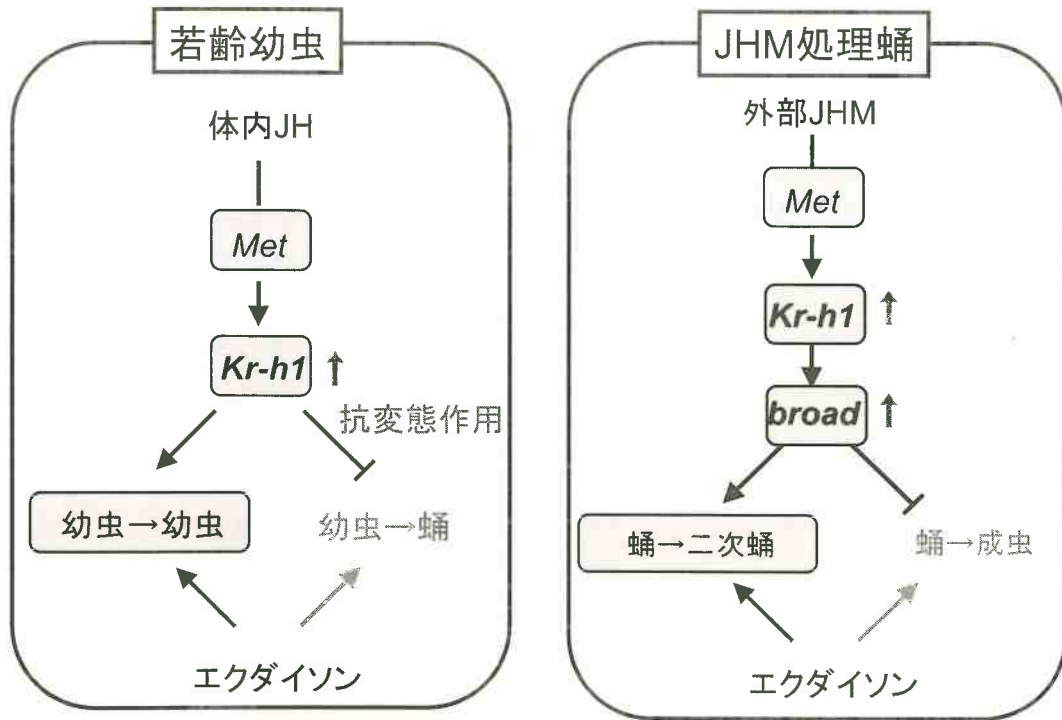


図4 *Kr-h1*によるJHシグナル伝達機構

若齢幼虫では高濃度の体内JHがJH受容体候補遺伝子 (*Met*) を介して *Kr-h1* 遺伝子の発現を誘導するため、幼虫脱皮が起こる (左図)。終齢幼虫では体内JHが消失し *Kr-h1* の発現が停止するため、蛹化が起こる (左図)。蛹初期に外部からJHアナログ (JHM) を投与すると、再度 *Kr-h1* が誘導され、蛹化決定遺伝子である *broad* を再誘導するため、二次蛹化が起こる (右図)。

Kr-h1は、阻害剤開発の直接のターゲットにはならないが、同遺伝子の発現を制御する物質はIGRとして利用できる可能性が高い。最近、私達はカイコ培養において*Kr-h1*遺伝子がJHによって著しく誘導されることを見いだし、さらに同遺伝子の上流にJH応答配列(JHRE)を同定した(篠田・粥川、未発表データ)。このJHREの下流にルシフェラーゼ遺伝子をつないだレポータープラスミドをカイコ細胞に導入し、レポーター活性を測定することで、JHアゴニストをハイスループットでスクリーニングすることができる。また同じ系で、JH存在下で候補物質に対するレポーター活性を調べることで、JHアンタゴニストをスクリーニングすることができる(特許申請中)。

6. 今後の研究展開

カイコやコクヌストモドキのゲノム情報、形質転換技術、RNAi技術が利用可能になったことで、JH生合成やJH作用機構の解明が加速的に進み、長い間不明であったJH受容体遺伝子も近いうちに特定されるものと予想さ

れる。さらに、それらを標的分子とした新規IGRの合理的開発が可能になるものと期待される。

謝 辞

本研究は、主に水口智江可博士、並木俊樹博士、粥川琢己博士、三田和英博士、芳山三千代さん、金城輝則君、比留間潔博士と共同で行ったものである。本研究は生研センター基礎研究推進事業(PROBRAIN)の援助によって実施した。ここに深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) Kinjoh, T. et al. (2007), *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 37, 808-818
- 2) Shinoda T, Itoyama K. (2003), *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.*, 100, 11986-11991
- 3) Minakuchi, C. et al. (2008), *FEBS J.*, 275, 2919-2931
- 4) Minakuchi, C. et al. (2008), *Dev. Biol.*, published online

◀国内情報▶

イネで低い温度でも発芽を向上させる遺伝子を発見 — 乾燥や塩害などのストレスでも同様の役割

ホクレン農業協同組合連合会
藤野賢治

熱帯由来の作物であるイネを寒冷地の北海道で栽培する場合、低温ストレス耐性の付与が不可欠である。特に、直播栽培においては、播種期である5月上旬の低温により、発芽・苗立ちの不安定さが大きな問題となっている。直播栽培は、低コスト・省力化技術であり、稲作の栽培規模の拡大および春先の労働力の分散を可能とする。直播栽培用品種育成を目標とした研究において、今回低温発芽性遺伝子を単離・同定することに成功した。

1. はじめに

水稻の直播栽培は、省力・低コスト技術として期待されている。特に一戸当たりの栽培面積の大きい北海道では、稲作の栽培規模の拡大あるいは多角経営における春先の労働力の分散において、苗代管理のない直播栽培は今後極めて重要な技術である。

しかしながら、直播栽培での播種時（5月上旬）は気温が低く、従来の移植用品種では発芽・苗立ちが悪く、安定生産に結びつかない。北海道で稲作が始まった明治後期には、直播栽培を行っていたが、この発芽・苗立ちの不安定さが大きな問題であった。その後、苗代を用いた育苗による移植栽培が確立され、安定生産が可能となった。また、移植栽培ではビニルハウス内で育苗を行うため、栽培期間の確保にも繋がった。このような栽培技術の開発に加え、耐冷性や食味等に関する品種育成の結果、現在北海道はイネの主要な産地となっている。

我々は、低温下での発芽・苗立ちに優れるイタリア由来のイネ「Italica Livorno」（イタリアカリボルノ）を用いて、低温発芽性と低温苗立ち性に優れる直播栽培用品種の開発を目指した研

FUJINO Kenji

〒069-1317 北海道夕張郡長沼町東5線北15番地

究に着手した。今回、低温発芽性に関する遺伝子の単離・同定に成功したので、この遺伝子の特徴と今後の利用方法・展望について以下に説明する。

2. 寒冷地における稲作

イネは熱帯に由来する作物であるが、品種改良の成果により、現在では世界の広い地域で栽培できるようになった。北海道は世界の稲作の北限地域であり、北海道でのイネの生産は世界的に誇るべき農業といえる。播種期、穂孕み期の低温ストレス耐性は寒冷地で栽培される品種にとって最も重要な形質である。

イネの発芽適温は25～30℃であるが、北海道での直播栽培での播種時（5月上旬）は15℃となる。世界の多くのイネを用いた低温発芽性の品種比較の結果、「Italica Livorno」は最も高い低温発芽性を示す品種の一つとして同定された¹⁾。従来品種では、15℃7日目ようやく発芽が始まり、殆どの種子が発芽するにはさらに3日を要する。一方、「Italica Livorno」は処理後、3日目に発芽が始まり、4日目には殆どの種子が発芽する。従来品種で認められる低温下での生育の停滞は、生育障害や病気感染等リスクを増大し、苗立ち性の不安定さに繋がる。また、苗立ち性にも優れる「Italica Livorno」

は、直播品種育成の有力な遺伝資源と期待されてきた。しかしながら、「Italice Livorno」は脱粒、晩生、長稈であり、殆どの形質が現在の品種に比して劣悪である。これらは優良な系統の選抜を著しく困難としている^{2,3)} (図1)。

3. 低温発芽性遺伝子の同定

そこで我々は、DNAマーカーを利用することでこのような劣悪形質に影響されない選抜システムの開発を行った。低温発芽性に優れる

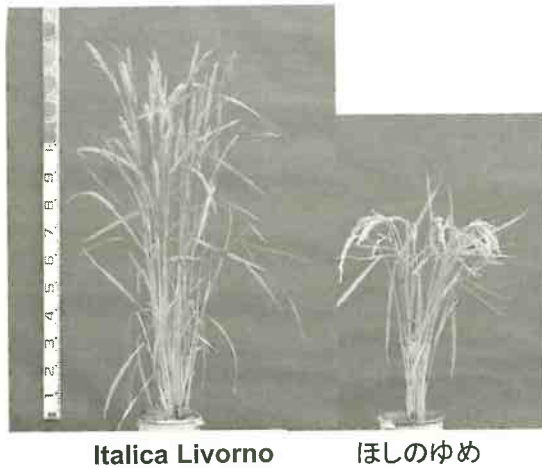


図1 供試材料の特徴

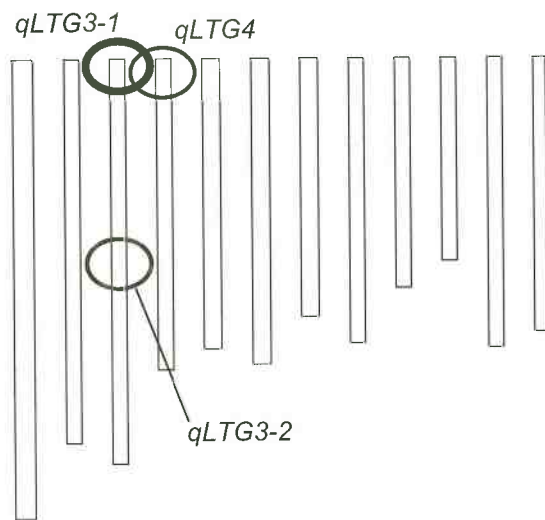


図2 低温発芽性遺伝子が存在する染色体領域

「Italice Livorno」と従来品種「はやまさり」の低温発芽性に関する品種間差異の原因となる遺伝子を同定するために、QTL (Quantitative Trait Loci) 解析を行った。その結果、「Italice Livorno」に低温発芽性を高くする3個の遺伝子の存在を同定することに成功した⁴⁾。特に、第3染色体に見出された*qLTG3-1*は、極めて作用力が高く、低温発芽性の改良において重要な遺伝子であると考えられた (図2)。実際に、DNAマーカー選抜により、「Italice Livorno」から*qLTG3-1*を「はやまさり」へ導入した準同質遺伝子系統は、「はやまさり」と比して明らかに高い低温発芽性を示した (図3)。また、この準同質遺伝子系統は、低温だけでなく、高温、高塩濃度、高浸透圧条件においても高い発芽性を示したことから、*qLTG3-1*は複数のストレスへの耐性を示すことが示唆された⁵⁾。

4. 新規タンパク質をコードする *qLTG3-1*

このような特性を示す低温発芽性遺伝子*qLTG3-1*の原因遺伝子を明らかにするため、ポジショナルクローニングを行った。その結果、*qLTG3-1*は全長555bpの新規なタンパク質をコードする遺伝子であることが明らかとなった⁵⁾。このタンパク質には、グリシンリッチリピートとリピッドトランスファープロテインの2種類のドメイン構造が認められたが、いずれのドメインも異なる機能を示す多くの遺伝子に存在しており、*qLTG3-1*の機能推定には至らなかった。

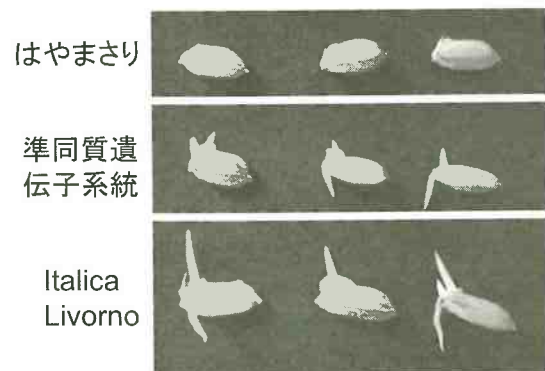


図3 低温発芽性の様子

「Italica Livorno」は機能型の配列を持つのに
 対し、「はやまさり」では71bpの欠失による
 フレームシフトが生じ、非機能型となってい
 た。「Italica Livorno」由来の機能型遺伝子を「は
 やまさり」へアグロバクテリウム法により遺伝
 子導入したところ、得られた形質転換イネは高
 い低温発芽性を示した。このことから、この遺
 伝子変異が低温発芽性の品種間差異の原因であ
 ることが証明された。

*qLTG3-1*の遺伝子発現は、種子の登熟過程や
 貯蔵中の種子では認められないが、発芽処理後
 速やかに種子の胚部分で発現が認められた。ま
 た、低温だけでなく発芽適温においてもその遺
 伝子発現が認められたことから、ストレスに誘
 導される遺伝子ではないことがわかった。さら
 に、プロモーターGUS解析の結果、*qLTG3-1*は
 幼芽・幼根を覆っている胚組織および胚に面し
 ている糊粉層で発現していた(図4)。これら
 のことから、*qLTG3-1*は発芽自体を促進する機
 能を有し、発芽の極初期のステップで働いて
 いる遺伝子と我々は考えている。

また、このような種子発芽時の発芽に関連す
 る遺伝子の組織特異的な遺伝子発現は、双子葉
 植物でも明らかになっている。このことから、
 種子の構造が全く異なる単子葉と双子葉植物に
 おいても、保存された「発芽」メカニズムが存
 在することが明らかとなった。

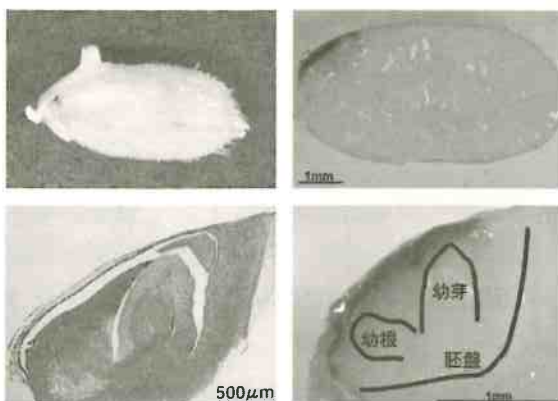


図4 プロモーターGUS解析

5. 今後の展望

作物の品種改良で育種目標となる形質の殆ど
 は、複数の遺伝子が関与する量的形質
 (Quantitative Trait)である。これらの改良に当
 たっては大規模な選抜集団を用いるため、DNA
 マーカーによる目的形質の効率的な選抜は重要
 な技術となる。特に、作用力の大きな遺伝子を
 同定し、DNAマーカーを利用することは、目的
 形質の改良を飛躍的に向上させることに繋がる。
 本研究で同定した低温発芽性遺伝子*qLTG3-1*は、
 作用力が大きく、低温発芽性の改良において有
 用な遺伝子と考えられる。「Italica Livorno」に
 は多くの劣悪形質が認められるが、*qLTG3-1*に
 関する準同質遺伝子系統では、劣悪な一般農業
 特性は観察されなかった²⁾。そのため、*qLTG3-1*
 を用いた低温発芽性の改良においては、劣悪形
 質の連鎖による選抜効率の低下はないことが予
 想された。

また、*qLTG3-1*とは異なる作用力の大きな低
 温発芽性遺伝子*qLTG11*の存在がインド型イネ
 「Kasalath」(カサラス)に報告されている⁶⁾。
 今後、これらの遺伝子間相互作用を明らかにし、
 さらに安定した低温発芽性の確立が期待できる。

しかしながら、これらの遺伝子を用いること
 で低温発芽性の改良は行えるが、実際の直播栽
 培には、さらに低温伸長性等の形質を付与し、
 低温下で安定した苗立ち性を発揮する系統を育
 成しなければならない(図5)。現在、これら
 の形質についても関与遺伝子の同定および
 DNAマーカーの開発に取り組んでいる。

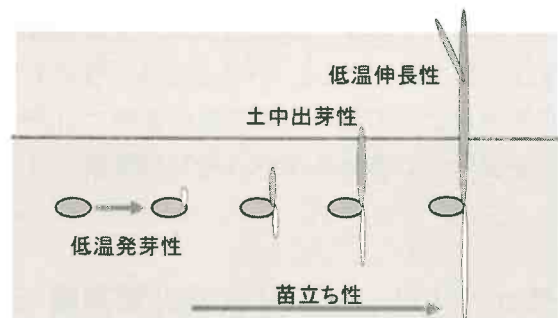


図5 直播栽培用品種開発の育種目標

6. おわりに

作物の安定生産において、環境ストレス耐性は最も重要な育種目標である。しかしながら、その分子メカニズムの解明は殆ど進んでいない。また、環境ストレス耐性に関するDNAマーカーは、開発した作物では用いることが出来るが、シンテニーが保存されている場合を除いて他作物への利用はできない。今回、原因遺伝子を単離したことにより、イネ以外の作物への応用が可能となった。データベース検索の結果、*qLTG3-1*と相同な遺伝子は、トウモロコシ、コムギ、オオムギ、ダイズに存在していた。今後、これらの作物での遺伝子機能の解明とその利用を行うことで、これら作物の安定生産へ繋げることが期待される。また、イネにおいても、野生イネや広範な遺伝資源について、遺伝子配列を比較することで有用な新規対立遺伝子の同定とその利用が可能となる。

謝 辞

本研究の一部は、農林水産省 アグリ・ゲノム研究の総合的な推進 (QT-3007) によって行われました。また、本研究の実施にあたり共同研究先の独立行政法人農業生物資源研究所の関係各位にご協力をいただきました。

文 献

- 1) 小高真一・安部信行 (1988), 農業技術, 43, 165-168
- 2) Fujino (2004), *Euphytica*, 136, 63-68
- 3) Fujino, K. and Sekiguchi, H. (2005), *Breed. Sci.*, 55, 141-146
- 4) Fujino, K. et al. (2004), *Theor. Appl. Genet.*, 108, 794-799
- 5) Fujino, K. et al. (2008), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 12623-12628
- 6) Miura, K. et al. (2001), *Breed. Sci.*, 51, 293-299

◀国内情報▶

米の古米臭の原因となる酵素の有無を 判別するDNAマーカーの開発

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
作物研究所 米品質研究チーム
鈴木 保 宏

米の経時的品質劣化のうち古米臭の発生は、米に含まれる脂質の酸化分解によって引き起こされる。したがって、この酸化分解に関与する酵素タンパク質を含まない米では、古米臭の原因となる成分が少なくなると考えられる。そこで、米脂質の酸化分解に関与する「リポキシゲナーゼ (LOX)」をもたないイネの品種を簡易に選抜できるDNAマーカーを開発した。これにより、古米臭発生が少ないイネ品種の早期選抜が簡単な操作でできるようになり、品種育成の効率化が期待される。

1. 米の貯蔵と品質の劣化

世界の食糧事情は急変している。BRICs等の経済発展に起因して穀物消費は拡大し、かつバイオエタノールやバイオプラスチック等の穀物の非食用利用も増大している。このため、穀物価格は大幅に上昇し、穀物の輸出制限等を行なう国も現れている。一方、日本国内の米については、まれに冷害に起因する一時的な不足はあるものの一貫して生産過剰傾向にあり、そのための生産調整が行われている。しかしながら、米は消費量が減ったとはいえわが国の主食であり、かつ唯一の自給可能な穀物である。逆に言えば、米以外の穀物は海外に依存する割合が極めて高く、いつ食糧不足になっても不思議ではない。このような状況を鑑み、主食・米が、高い品質を維持したまま効率よく貯蔵されることは極めて重要である。

米の主成分はデンプンであり水分が比較的小さいので、他の食品と比べ貯蔵は容易ではある。しかし、いつまでも収穫直後の新鮮な状態を保てるわけではなく、食味（物性等）の低下や風味の劣化等の「古米化」が生ずる。古米化・品

SUZUKI Yasuhiro

〒305-8518 茨城県つくば市観音台2-1-18

質劣化を抑えるためには低温貯蔵が有効であるが、貯蔵庫を建設するためには莫大な費用と土地が、そして貯蔵庫の維持にはエネルギーが必要となる。それゆえ、品質劣化の少ない米（イネ）の作出は、貯蔵性を改善する有効な方法の一つとなる。

米の物理性の劣化や古米臭の発生は、脂質の酸化分解に起因すると考えられている（図1a）¹⁾。玄米には2～3%の脂質が含まれており、その多くはヌカ層に局在する。脂質が分解して生成した遊離脂肪酸は米の物性を変化させるが、遊離脂肪酸のうち不飽和結合をもつ脂肪酸には酸化酵素・リポキシゲナーゼ (LOX) が作用し、生成した過酸化物はさらに分解されて古米臭成分（揮発性の低分子化合物）となる。米のヌカ画分には3つのLOXが存在するが、そのうちLOX-3は全LOX活性の80～90%を占める主要なアイソザイムである²⁾。したがって、米のLOX-3が欠けて脂質の酸化活性が低下した米が得られれば、貯蔵性に優れた米となることが期待できる。

2. 脂質酸化酵素リポキシゲナーゼが欠失したイネ

(1) LOX-3欠失イネの選抜

貯蔵中の米の臭いは開封直後には比較的容易に感じることができるが、臭いの成分はすぐに揮発してしまう。したがって、古米臭の強弱を嗅覚だけで判別するのは難しく、その原因成分の生成に關与するLOX-3の有無による評価が、より正確な古米臭生成欠失性の選抜方法となる。そこで、筆者らはイネ種子のLOXを特異的に検出するモノクローナル抗体を作製した³⁾。この抗体を用いたウエスタンブロットティング解析により、LOX-3が欠失したイネ品種のスクリーニングを“遺伝資源品種”を対象に行った(図1b)⁴⁾。その結果、タイの在来品種“Daw Dam”でLOX-3が検出されず、Daw Damのヌカ画分のLOX活性はコシヒカリのその10%程度であることが明らかになった。そこで、上記2品種のヌカ抽出液をイオン交換クロマトグラフィーにかけたところ、コシヒカリではLOX-3の大きな酵素活性ピークが検出されたが、Daw DamではLOX活性は認められなかった。以上のように

Daw Damの種子では免疫学的方法により認識されるLOX-3タンパク質、ならびにクロマトグラム上のLOX-3活性が存在しないことが明らかになった。なお、Daw Damでは種子のLOX-3が欠失しているが、発芽時にはコシヒカリ同様にLOX活性が存在する⁵⁾。

(2) LOX-3欠失性の遺伝解析

Daw DamのもつLOX-3が欠けた遺伝的な特性を明らかにするために、Daw DamとLOX-3をもつ品種とを交配し、F1個体に実ったF2種子中のLOX-3の有無をウエスタンブロットティングにより検討した⁶⁾。その結果、日本晴/Daw Damを含む4つの組合せでLOX-3の有無の分離が3:1の期待値に適合した。また、日本晴/Daw Damの正逆交配に対してDaw Damを戻し交配し、得られたB₁F₁種子をウエスタンブロットティングにより解析したところ、両組合せにおけるLOX-3の有無の分離が1:1の期待値に適合した。これらの結果は、LOX-3の有無は単一の遺伝子により

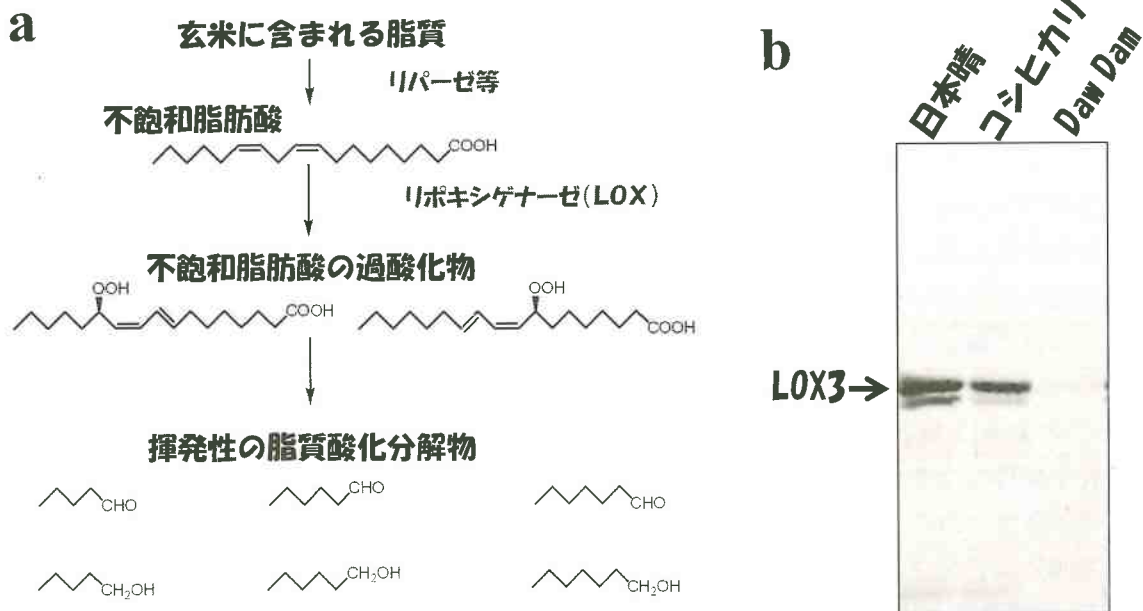


図1 リポキシゲナーゼ-3タンパク質が欠失した系統「Daw Dam」

a. リポキシゲナーゼ (LOX) 経路。

b. LOX-3タンパク質の有無の解析。日本晴種子、コシヒカリ種子、ならびに Daw Dam種子中に含まれるLOX-3タンパク質の有無をウエスタンブロットティングにより解析した。

支配され、LOX-3が欠けた特性は1つの劣性遺伝子に起因することを示している。

3. LOX-3欠失米の貯蔵特性

(1) LOX-3欠失性とヌカ脂質の酸化安定性

古米臭の原因となる脂質の大半とLOXはヌカ画分に局在するので、ヌカ画分を貯蔵して脂質の酸化的安定性とLOX-3の有無の関係を検討した⁷⁾。すると、Daw Damの遊離脂肪酸（LOXの基質）含量は他の品種と同程度であったが、総脂質中の過酸化物量と脂質過酸化物が分解して生成するカルボニル化合物量は、他の品種より貯蔵期間を通して低く推移した。これらの結果は、LOX-3欠失米のヌカ脂質の酸化安定性は、LOX-3含有米品種よりも高いことを示している。

(2) LOX-3欠失性と貯蔵にともなう揮発性物質量の関係

LOX-3欠失性が、日本で実用上問題となる玄米貯蔵でも有効であるかを検討するために、最長8週間貯蔵した玄米に蓄積する揮発性物質の質と量を解析した（図2）⁸⁾。供試品種として、LOX-3含有米品種（コシヒカリ、こがねもち）とLOX-3欠失米品種（Daw Dam, CI-115）を用いた。35℃貯蔵では、コシヒカリやこがねもちでは、貯蔵にともない2週目以降急激にヘキサナール量（C6のアルデヒド）が増大したのに対して、LOX-3欠失米品種Daw DamやCI-115での増大の程度は少なく、LOX-3含有米品種と比較して1/3～1/5の量以下であった。同様にペンタナール（C5のアルデヒド）やヘキサノール（C6のアルコール）の蓄積量に関しても、LOX-3欠失米が含有米よりも少ない傾向が認められた。なお4℃貯蔵の場合には、揮発性物質量の品種

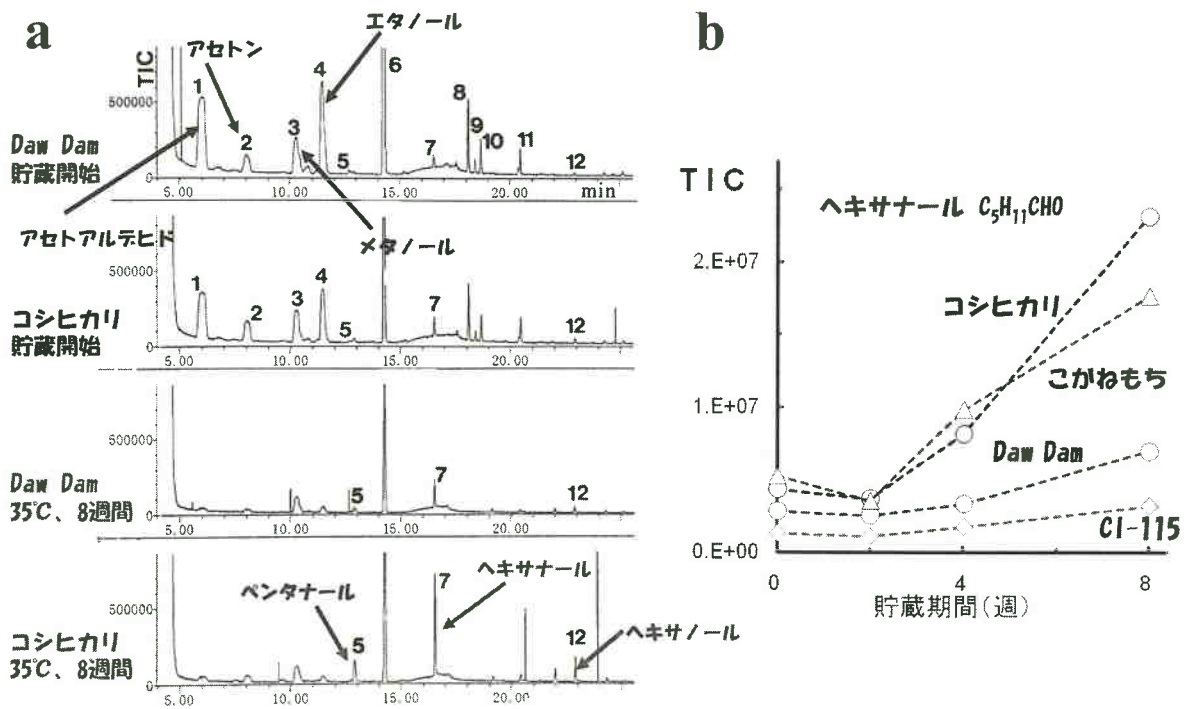


図2 貯蔵したコシヒカリとDaw Damに蓄積される脂質酸化分解物の比較

a. 玄米に蓄積された揮発性物質のガスクロマトグラフィー・質量分析計による解析例（クロマトグラム）。Daw Damとコシヒカリの玄米を、35℃で8週間貯蔵した。

b. 貯蔵に伴うヘキサナール（炭素数6の揮発性アルデヒド）量の推移。LOX-3含有米品種（コシヒカリ、こがねもち）、LOX-3欠失米品種（Daw Dam, CI-115）。

間差や貯蔵中の顕著な増大は認められなかった。これらの結果は、古米化にともない生成する揮発性物質の蓄積が、LOX-3欠失米で減少していることを示している。

4. 遺伝子多型を利用した簡易選抜方法の開発

上記したように、米のLOX-3欠失米では古米臭発生が軽減されることが示唆された。しかし、Daw Damは熱帯日本型品種に区分されるイネであり、日本の近代的な品種と明らかに異なる多くの不良特性をもつ^{9,10)}。そのため交配と選抜による品種改良が必要であるが、これまでは米のLOX-3タンパク質に対する抗体を用いて、LOX-3タンパク質の有無を判別してきた。しかし、この方法では米の収穫まで解析を待つ必要があり、分析自体にも大変な労力と時間がかかった。その上、胚芽を分析に使用するため、LOX-3欠失と判明した種子を圃場に移植することができなかった。そこで、育種現場で容易に行えるより簡便な選抜方法として、苗の葉1枚でLOX-3タンパク質の有無を判別できるDNAマーカーを用いる選抜方法の開発を試みた^{11,12)}。

(1) マイクロサテライトマーカーによる連鎖分析

筆者らはまず、日本晴とDaw Damの交配後代F₂株から由来するF₃種子を用いてRFLP解析を行った。その結果、G2132のマイナーバンドとLOX-3遺伝子とが約8cMの距離で連鎖していることが明らかになった。イネゲノム情報によるとG2132の相似配列は第3染色体に座乗し、その近傍には4つのLOX様遺伝子が存在する。そこで、これらLOX様遺伝子の近傍に存在するSSRマーカー(RM6736とRM6329)とLOX-3欠失性の間の連鎖解析を行った。その結果、LOX-3遺伝子は、2つのSSRマーカーの間の染色体領域に存在する3つのLOX様遺伝子の何れかであることが明らかになった。しかし、これらLOX様遺伝子は極めて近い領域内(60Kb)に存在するので、これ以上連鎖解析によりLOX-3遺伝子

を同定することは困難であった。そこで、抗LOX-3モノクローナル抗体カラムを用いて精製したLOX-3タンパク質の内部アミノ酸配列、3ポリペプチド、合計28アミノ酸残基を決定した。得られた配列を用いてデータベース検索を行い、その情報よりLOX-3遺伝子を推定したところ、Os03g0700400がコードするLOX遺伝子に含まれる配列とのみ一致した。こうして、Os03g0700400がLOX-3タンパク質をコードするLOX-3遺伝子であることが明らかになった。

(2) LOX-3遺伝子の塩基配列の決定

LOX-3欠失性がLOX-3遺伝子の変異によることを明らかにするため、Daw Damの種子LOX-3遺伝子の塩基配列を決定し、公開されている日本晴のLOX-3遺伝子の塩基配列と比較した。その結果、第7エキソンに日本晴ではトリプトファンを指定するコドン「TGG」が、Daw Damでは一塩基置換により終止コドン「TGA」へ変異するナンセンス変異が生じていることが明らかになった。したがって、Daw Damでは、このナンセンス変異により正常なLOX-3タンパク質が合成されなくなり、これがLOX-3欠失性を示す原因となると考えられた。

(3) LOX-3遺伝子を検出する方法・選抜方法の開発

見出した一塩基変異を利用してLOX-3欠失性を簡易に同定する方法の開発を試みた。見出した変異は、制限酵素Mva Iの認識部位を認識型「CCTGG」から非認識型「CCTGA」へと変える変異であるので、CAPS法による変異の検出が可能である(図3a)。日本晴では切断されたDNA断片が検出されるのに対して、Daw Damでは切断されないDNA断片が検出され、F₂集団の全ての個体においてLOX-3遺伝子の遺伝子型とLOX-3タンパク質の有無に関する表現型が完全に一致した。

また、任意の一塩基多型を検出できるドットプロットSNP法によっても変異の検出が可能であり、日本晴型ないしはDaw Dam型の対立遺伝子を検出するためのプローブを用いることで、

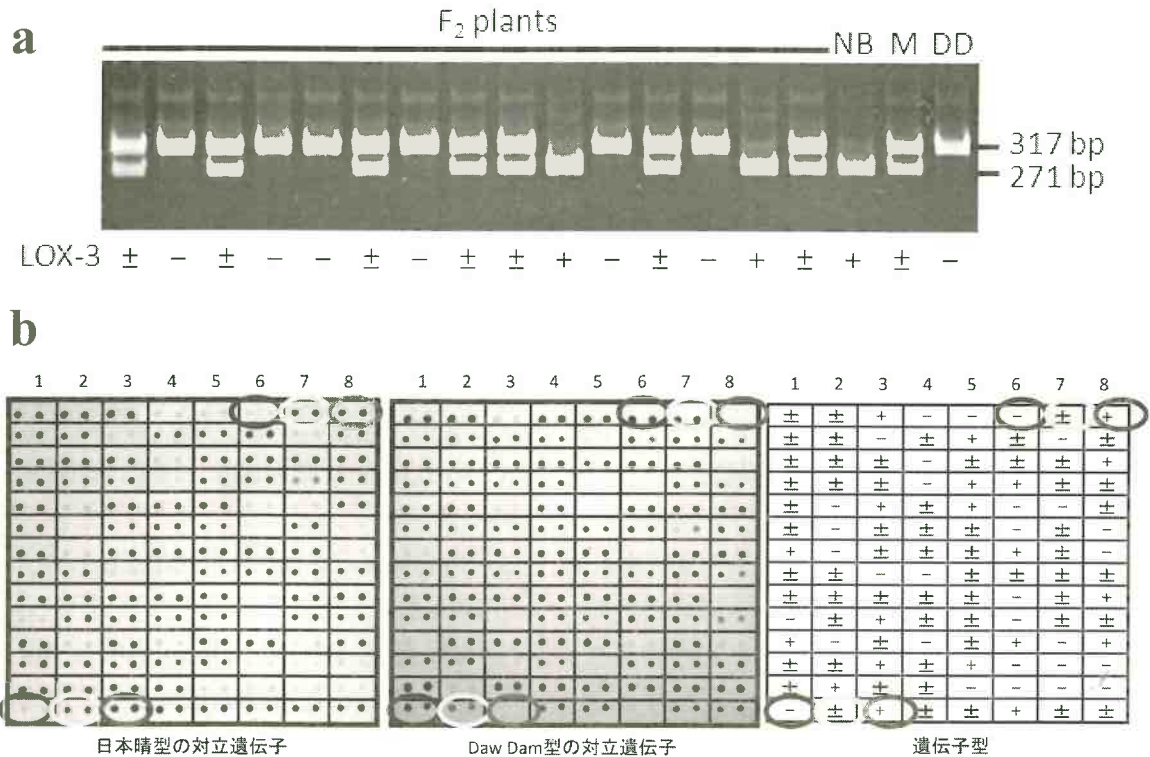


図3 LOX-3が欠けているイネの簡易な選抜方法

a. CAPS法によるLOX-3遺伝子多型の解析。NB：日本晴，DD：Daw Dam，M：日本晴とDaw Damの混合。LOX-3：F₃種子中のLOX-3タンパク質の有無から評価したF₂株のLOX-3の有無に関する表現型。

b. ドットプロットSNP法によるLOX-3遺伝子多型の解析。左パネル：日本晴型の対立遺伝子検出用プローブによる検出，中パネル：Daw Dam型の対立遺伝子検出用プローブによる検出，右パネル：左中のパネルより得られたF₂株のLOX-3の有無に関する表現型。日本晴型検出用プローブのみで検出されるイネが正常LOX-3遺伝子ホモ型，Daw Dam型検出用プローブのみで検出されるイネがlox-3遺伝子ホモ型 (LOX-3欠失型)，そして双方で検出されるイネがヘテロ型。

LOX-3遺伝子の遺伝子型を判別することができる (図3b)。この方法によっても、F₂集団の全ての個体においてLOX-3遺伝子の遺伝子型と表現型が一致した。以上の結果は、LOX-3欠失性がLOX-3遺伝子のナンセンス変異によるものであることを支持する結果であり、開発されたDNAマーカーを用いることで、LOX-3をもたない古米臭発生の少ないイネの選抜・育成を効率的に進められることを示している。

5. おわりに

米の安定供給のためには十分な備蓄が望ましいことはいままでもないが、備蓄には莫大な経費がかかる。そこで、少しでも収穫後の米の劣化を減らすことが備蓄費用軽減には必要となる。本稿で記したようにLOX-3欠失米では風味の劣化が軽減されることが示唆され、LOX-3欠失イネの簡易な選抜方法も開発された。現在、この方法を利用し、育成グループと共同でLOX-3欠失系統の育成を進めており、近い将来には貯蔵性が向上した米の作出が期待される。しかしながら古米臭発生だけが貯蔵中の品質劣化現象ではなく、主要成分物性の変化、食味や食感の低

下も生じる。これらの課題を一つずつ解決していくために、筆者らは脂質分解のキー酵素が欠失した系統¹³⁾や、アミロース含量を数%高める変異体¹⁴⁾等を見出しており、これら系統の利用も考えている。

謝 辞

本研究の一部は、農林水産省プロジェクト研究「需要拡大のための新形質水田作物の開発」、
「画期的新品種の創出等による次世代稲作技術構築のための基盤的総合研究」および文部科学省の科学研究費補助金「コメの貯蔵性の改良のためのリポキシゲナーゼ欠失遺伝子の同定とその利用」により実施した。

文 献

- 1) 森田雄平 (1984) 化学と生物, 22, 710-718
- 2) Ida, S., Y. Masaki and Y. Morita (1983) Agric Biol Chem 47, 637-641
- 3) Suzuki, Y. et al. (1992). Biosci Biotechnol Biochem 56, 678-679
- 4) Suzuki, Y. et al. (1993) Japan J Breed 43, 405-409
- 5) Suzuki, Y. and U. Matsukura (1997) Plant Sci 125, 119-126
- 6) Suzuki, Y. et al. (1996) Euphytica 91, 99-101
- 7) Suzuki, Y. et al. (1996) J Agric Food Chem 44, 3479-3483
- 8) Suzuki, Y. et al. (1999) J Agric Food Chem 47, 1119-1124
- 9) 鈴木保宏 (2001) 農業技術 56, 444-448
- 10) Suzuki, Y. (1994) Gamma Field Symp 33, 51-62
- 11) 鈴木保宏・白澤健太 (2007) 特願2007-192499
- 12) Shirasawa, K., et al. (2008) Breed. Sci. 58, 169-176
- 13) 鈴木保宏 (2007) 特願2007-053214
- 14) Suzuki, Y. et al. (2008) Breed. Sci. 58, 209-215

◀国内情報▶

味覚センサーを用いた緑茶の 滋味（味わい）の客観的評価技術

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所
野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム
林 宣 之

味覚センサーを利用することにより、渋味とうま味の二つの要素から緑茶の滋味を客観的に評価する方法を開発した。市販の化学薬品から容易に調製可能な標準液の使用、センサー出力から算出される味推定値スケールの利用、カテキン類等のポリフェノール化合物を除去したうま味用試料の調製が、緑茶の味の高精度な数値化を可能にした。その結果、緑茶の渋味は8段階、うま味は6段階に格付けすることができる。

1. はじめに

緑茶の味は、その品質の重要な指標の一つであり、伝統的に官能審査により滋味として評価されてきた。官能審査は緑茶の味を直接評価できる非常に優れた手法であるが、主観的側面が欠点として指摘されることもある。それ故に、以前から客観的な科学的評価法の開発が望まれている。長年にわたる緑茶浸出液の化学成分研究は呈味成分に関する数々の注目すべき事実を明らかにしてきたが、一般的に食品の味は、含まれる呈味成分単独の味のみで決定されるのではなく、呈味成分間あるいは呈味成分／非呈味成分間の種々の相互作用（味の増強効果、抑制効果など）の影響を受ける極めて複雑な系であるために、通常の化学成分分析による緑茶の味評価には限界があった。

最近、九州大学の都甲教授の研究グループとインテリジェントセンサーテクノロジー社によって、味覚センサー装置（図1）が開発された。これは、基本的に酸味、塩味、苦味、うま味、渋味に対してヒトの舌が味を感じるのと同様に応答するため、これまでヒトが舌で主観的にしか評価できなかった味というものを数値化し客

観的に評価できる可能性が出てきた。この装置を用いた様々な食品や医薬品の味評価の試みがあるが、私たちの研究グループでは、数年前から味覚センサーを利用して緑茶の味を客観的に評価する手法の開発に取り組んできた。この度、緑茶の渋味とうま味を精度良く格付けする方法を開発することに成功し、緑茶の滋味の客観的評価法を進展させることができた。本稿では、その手法を紹介する。

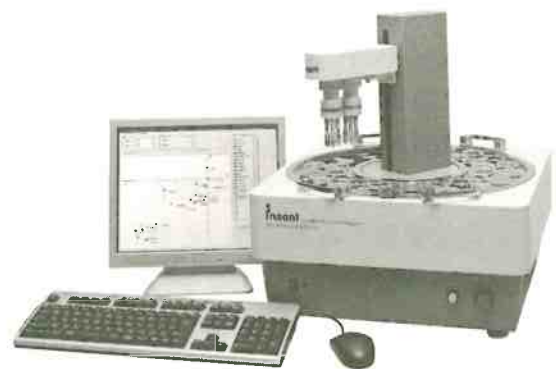


図1 味覚センサー装置（インテリジェントセンサーテクノロジー社製味認識装置 SA402B型）

HAYASHI Nobuyuki

〒428-8501 静岡県島田市金谷2769

2. 格付けの基本的な考え方

緑茶の滋味評価法の基本方針は以下の通りである。1) 緑茶の味を渋味、うま味、苦味の三要素に分割して評価する（渋味は、厳密には基本味には含まれないが、緑茶の滋味を構成する重要な要素であるため、ここでは味として取り扱う）。2) それぞれの味毎に、その味強度を多段階に評価できるようにする。3) 味強度は不動の基準点から算出する。この三番目の基本方針は、当然の事のようにであるが、従来の味覚センサーの利用方法では見過ごされてきた重要なポイントである。

3. 渋味評価法¹⁾

3.1. 標準液

どのような物理量であれ、それを測定する際の基本のひとつは基準点を設定することである。従来の味覚センサーの利用法は、主に試料間の味強度の相対的比較であったため、緑茶の場合には標準試料として市販のペットボトル緑茶飲料等がしばしば用いられてきた。しかし、そのような標準試料は製品のロット間の差異やメーカーの販売戦略による味変化の影響を受けるために、適切な標準試料とは言えない。そこで、市販の化学薬品から容易に調製可能な標準液を使用することにした。標準溶液に要求される条件は、①その味が測定対象と同じ性質であること、②そのセンサー応答電位が測定対象と近いこと、③その化学的挙動が測定対象と類似していること、④安価であること、の四点であると考えた。種々の検討の結果、緑茶の渋味に関しては、0.650 mMの(-)-エピガロカテキン-3-O-ガレート (EGCg) 水溶液 (5.0 mM塩化カリウム (KCl) を含む) が、これらの条件を満たすことが分かった。EGCgは茶葉中に最も多く含まれているカテキン類で、浸出液の渋味に大きく寄与すると考えられているポリフェノールである。

3.2. 測定方法

茶2.00gをナイロン・フィルター付きガラス製ポットに量り取り、200mLで5分間浸出した水溶液を濾紙で濾過して測定試料とした。その試料を専用の測定カップに入れて、味覚センサー装置 (SA402B型) の台座にセットすると (同時に最大8試料までセット可能)、一連の測定作業は渋味センサー・プローブ (SB2AE1型) と参照プローブを装着したロボットアームによって全自動で実行される。センサー膜に吸着した渋味物質による膜電位の変化量を測定し、三回測定の平均値を各試料の渋味センサー出力値とした。

3.3. 緑茶の渋味の格付け方法

先に求めたそれぞれの試料に対するセンサー出力値は電位差であるため、味の強度としては分かりづらい。そこで、その出力値を20%濃度差のEGCg水溶液間のセンサー出力差を一目盛としたスケール上の値 (=渋味推定値) に換算した。これは、「基本味の強度は味物質の濃度の対数に比例し、ヒトが味の違いを認識できる味物質の最小の濃度差の平均は約20%である」という経験則に基づいている (“Weber-Fechnerの法則”と “Weberの法則”を根拠とする)。具体的な方法としては、各測定サイクル中に0.260mM EGCg水溶液 (5.0 mM KClを含む) の応答電位を測定し、その値と0.650 mM EGCg水溶液 (5.0 mM KClを含む) の応答電位との差 (A mVとする) を求め、試料のセンサー出力値に $-5.03 / A$ を乗じた値を渋味推定値とする (0.650 mMは0.260 mMの $1.2^{5.03}$ 倍の濃度)。マイナスの値を係数する理由は、渋味の増加とともに減少するセンサー出力値を、渋味推定値では値が大きくなるほど渋味が強くなるように表すためである。なお、この味推定値計算に使用する二種類の溶液のEGCg濃度は、EGCg濃度と渋味センサー出力の関係を表すグラフの直線部分から選択される必要がある。

図2は、様々な荒茶、仕上げ茶の浸出液の渋味推定値をまとめたものである。これらの値が

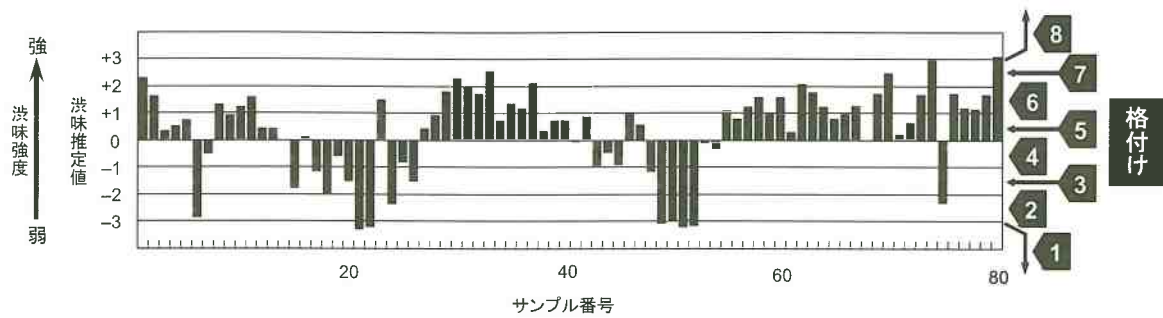


図2 緑茶の渋味推定値と8段階の格付け

約-3から約+3の範囲に収まることから、緑茶の渋味は8段階に格付けすることができる。すなわち、i) レベル1 (推定値 < -3), ii) レベル2 ($-3 \leq$ 推定値 < -2), iii) レベル3 ($-2 \leq$ 推定値 < -1), iv) レベル4 ($-1 \leq$ 推定値 < 0), v) レベル5 ($0 \leq$ 推定値 < +1), vi) レベル6 ($+1 \leq$ 推定値 < +2), vii) レベル7 ($+2 \leq$ 推定値 < +3), viii) レベル8 ($+3 \leq$ 推定値) である。

4. うま味評価法²⁾

基本的には、渋味評価法と同様のコンセプトによって評価が可能である。しかし、うま味センサーは緑茶浸出液中の主要成分の一つであるカテキン類等のポリフェノールに対しても応答することが明らかになったため、ポリビニルポリピロリドン (PVPP) を用いてそれらを除去した緑茶浸出液を試料とした (PVPPはポリフェノール除去剤としてしばしば使用される)。

4.1. 標準液

5.00 mMのグルタミン酸ナトリウム (Glu・Na) 水溶液 (30 mM KClと0.30 mM酒石酸を含む) を標準溶液として使用した。グルタミン酸は茶葉中に含まれているアミノ酸で、その塩はうま味への寄与が示唆されている化合物である。

4.2. 測定方法

渋味用試料と同様に調製した浸出液試料100

mL (渋味測定と同時に行う場合は、分けて使用すればよい) に対し、PVPP (2.00 g) を加え、室温で1時間処理後、濾紙で濾過したものを測定試料とした。味覚センサーの測定方法は渋味の場合と同様であるが、うま味センサー・プローブ (SB2AAE型) が試料に浸されている時の膜電位の変化量をうま味センサー出力値とした。

4.3. 緑茶のうま味の格付け方法

得られたセンサー出力値を20%濃度差のGlu・Na水溶液間のセンサー出力差を一目盛としたうま味推定値に換算した。試料の各測定サイクル中に測定した2.00 mMと5.00 mM Glu・Na水溶液 (共に30 mM KClと0.30 mM酒石酸を含む) の応答電位差 (A mVとする) を求め、試料のセンサー出力値に $-5.03 / A$ を乗じた値をうま味推定値とした (5.00 mMは2.00 mMの $1.2^{5.03}$ 倍の濃度)。渋味評価の場合と同様に、これら二種類のGlu・Na水溶液の濃度も、Glu・Na濃度とうま味センサー出力の関係を表すグラフの直線部分から選ばれなくてはならない。

図3は、様々な荒茶、仕上げ茶の浸出液のうま味推定値をまとめたものである。これらの値が-2から+2の範囲に収まることから、緑茶の渋味は6段階に格付けできる。すなわち、i) レベル1 (推定値 < -2), ii) レベル2 ($-2 \leq$ 推定値 < -1), iii) レベル3 ($-1 \leq$ 推定値 < 0), iv) レベル4 ($0 \leq$ 推定値 < +1), v) レベル5 ($+1 \leq$ 推定値 < +2), vi) レベル6 ($+2 \leq$ 推定値) である。

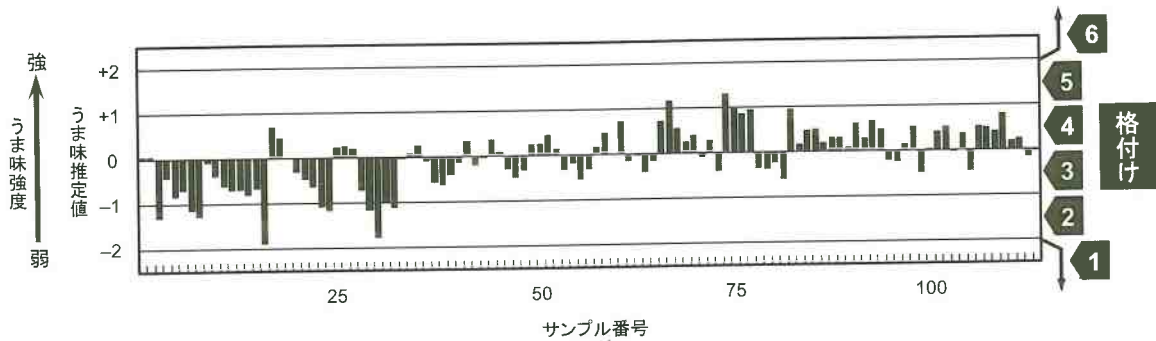


図3 緑茶のうま味推定値と6段階の格付け

5. 味推定値とヒトの官能との相関

上述の渋味推定値やうま味推定値とヒトの官能との関係を調べるために、健常ボランティアを対象にして、緑茶浸出液の渋味およびうま味の格付けを実施した。図4は、それぞれの味推定値がヒトの官能と高い相関を有することを示している。

6. おわりに

以上、味覚センサーを利用して緑茶の渋味とうま味をそれぞれ多段階に格付けし客観的に評価する方法を述べた。これまでも、味覚センサーの測定結果から、緑茶の味を渋味とうま味

の二次元マップとして表し評価する試みはあった。しかし、従来法には基準点の考え方や味推定値への換算方法、さらにうま味センサーに対するポリフェノールの影響など、種々の問題が存在していた。本研究によって、これらの問題点は解決され、味覚センサーを用いて緑茶の滋味を渋味とうま味の二要素から高い精度をもって評価することが初めて可能となった。

ここで用いた味評価法の方法論は、残された緑茶の苦味評価法の開発だけでなく、他の食品の味に対しても有効であり、応用が大いに期待される。現在、私たちの研究グループでは、新しい味センシング・テクノロジーの開発にも取り組んでおり、将来的に、さらに進化した味覚センサーは正に「人工の舌」として、食科学、

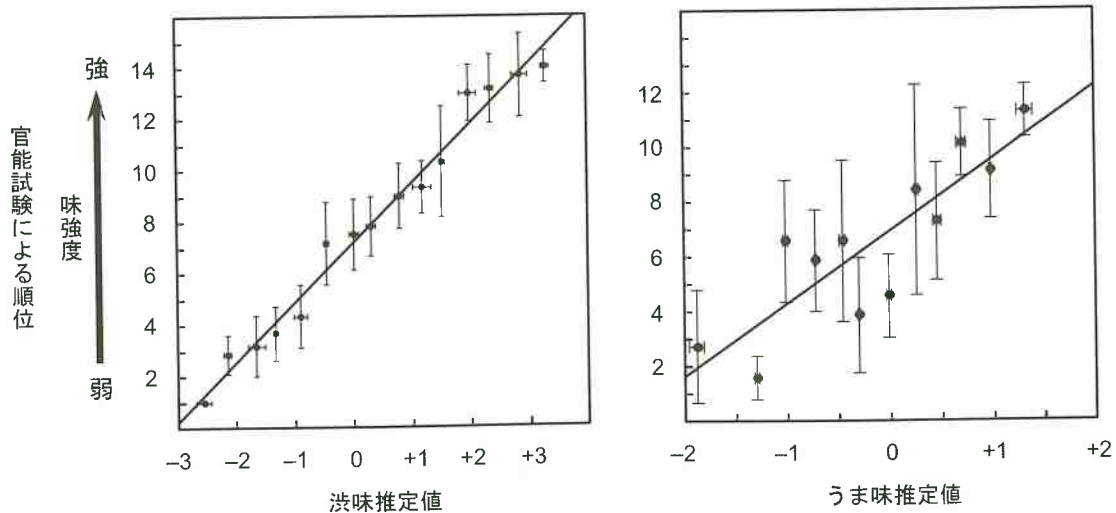


図4 味推定値とヒトの官能との関係
エラーバーは標準偏差。

及びその周辺領域に対して大きな影響を与えていくものと思われる。

謝 辞

引用文献中の共同研究者諸氏，特に池崎秀和博士ならびに陳榮剛氏（インテリジェントセンサーテクノロジー社），氏原ともみ研究員（野菜茶業研究所）に深く感謝いたします。また，試料調製に協力頂いた比嘉竜一氏（野菜茶業研究所），官能試験に参加して頂いた多くのパネリストの方々に深謝いたします。本研究の一部は独

立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構運営交付金プロジェクトNo.174「品質評価法」の支援を受けて行われたものであり，ここに御礼申し上げます。

文 献

- 1) Hayashi, N. et al. (2006), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70, 626-631
- 2) Hayashi, N. et al. (2008), *J. Agric. Food Chem.*, 56, 7384-7387

◀国内情報▶

マダニの飢餓耐性機構に必要な
オートファジー遺伝子の同定鹿児島大学 農学部 獣医学科
藤崎 幸蔵・白藤(梅宮) 梨可

生涯の大半の期間を「飢餓」状態で宿主探索の活動に費やすマダニは、極めて優れた飢餓耐性の分子機構を保有すると想像される。私たちは、飢餓時のマダニの養分補給メカニズムとして、飢餓誘導性のオートファジー（自食）機構が関与する可能性を示唆することができた。

1. はじめに

家畜のバベシア病などの重要疾病を媒介するマダニは、吸血なしでは生存できない偏性吸血性節足動物であるにもかかわらず、最長、数年間に及ぶ幼ダニ・若ダニ・成ダニから成る1世代の中で、実際に吸血するのはわずか数週間であり、生涯の大半の期間を「飢餓」状態starvation stateで宿主探索などの吸血以外の活動に費やしている。この意味でマダニの生活史の最大の特徴を、生物としては例外的に長い飢餓期間を有することにあるとし、マダニを「飢餓耐性の生物gorging-fasting organism」とみなすことが可能である。

また、マダニが他の吸血性節足動物と大きく相違する別のポイントとして、その吸血・消化機構が「細胞内消化intra-cellular digestion」に加えて、我々が最近明らかにした「細胞外消化機構extra-cellular digestion」をも併用することに拠っていることがあげられる¹⁾。すなわち、生活史の大半が飢餓期間に占有されているマダニでは、中腸細胞内に蓄えられた養分の細胞内消化と、中腸ルーメン内に残存している未消化養分の細胞外消化という、2種類の「養分活用メカニズム」によって、強靱な飢餓耐性が担保され、宿主探索のための活動や延命が可能になっ

ていることが推測される。マダニによる他に類のない多種多様な疾病媒介は、この飢餓耐性とこれによる長命の確立、これらの基盤機構としての多様な養分活用メカニズムがあってこそ可能になっていると、言うことが出来るかも知れない。

一方、真核細胞の細胞内タンパクの分解turnoverには、2種類の経路が存在していることが知られている。すなわち、ひとつは短命タンパクshort-lived proteinsに対するユビキチン・プロテアソーム系の機構であり、他のひとつは長命なタンパクlong-lived proteinsに対するオートファジーautophagy系の機構である。とくに近年は、細胞内タンパクの90%以上がlong-lived proteinsと細胞内オルガネラによって占められていることから、オートファジー経路のもつ生物学的意義が注目され、多種多様な研究が世界各地で展開されている状況にある。マダニの生存と生活史においても、「際だって優れた飢餓耐性」の事実を考えると、上記の「細胞内消化」と「細胞外消化」に加えて、第3の「養分活用メカニズム」として、マダニにおける飢餓誘導性の細胞内タンパクの分解bulk cytoplasmic degradation、すなわちオートファジー（自食）autophagy機構の関与の可能性が強く推察されてくる。

FUJISAKI Kozo, SHIRAFUJI (UMEMIYA) Rika

〒890-0065 鹿児島市郡元1-21-24

2. マダニのオートファジー関連遺伝子の単離と特性解明

そこで私たちは、フタトゲチマダニのESTデータベース HLG1 (*Haemaphysalis longicornis* Gene Index: 2004年~2005年にかけて、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所の辻尚利博士と、帯広畜産大学・原虫病研究センターの玄学南教授との共同で構築したもの)の中から中腸 (HLGIMg), 胚 (HLGI Emb), 卵巣 (HLGIOv) について, オートファジー関連遺伝子 autophagy-related (ATG) 遺伝子のホモログ (*HI* ATG) の探索と単離を行い, 中腸から *HI* ATG *HI* ATG 8 と *HI* ATG12, 胚から *HI* ATG3, 卵巣から *HI* ATG4 を得て, 詳細に特性解明を図ることとし, *HI* ATG12 についてはすでに学術論文として報告を行った^{2, 3)}。

現在までに得られている結果の概要は以下の通りである。

HI ATG3 は, アミノ酸327残基で構成され, 分子量は36.1kDaであり, ヒト, マウス, ショウジョウバエの Atg3 と高い相同性を示すとともに, 2種類のオートファジー形成関連のドメイン (Autophagy_Nドメイン, Autophagy_Cドメイン) を有していた。

HI ATG4 は, アミノ酸387残基で構成され, 分子量は43.8kDaであり, 節足動物よりもヒトやマウスの Atg4 と高い相同性を示し, Peptidase family_C54ドメインを有していた。

HI ATG8 は, アミノ酸117残基で構成され, 分子量は13.9kDaであり, ショウジョウバエ, 蚊, ヒトやマウスの Atg8 と高い相同性を示し, γ -aminobutyric acid type A receptor-associated protein (GABARAP) ドメインを有していた。

HI ATG12 は, アミノ酸136残基で構成され, 分子量は15.2kDaであり, 各種動物の Atg12 と高い相同性を示すが, 系統樹解析では蚊やショウジョウバエではなく, 住血吸虫と同じクラスターに帰属していた。また, Atgタンパクは一般にユビキチン様タンパクとされるが, *HI* Atg12 と各種動物のユビキチン間には相同性は認められ

なかった。

これら4種類のオートファジー関連遺伝子ホモログについて, マダニの発育期別 (若ダニから成ダニ) ならびにマダニの臓器別に, 発現動態をRT-PCRで調べたところ, これらの遺伝子の発現パターンは同様であり, 吸血開始によって発現レベルが低下し, 宿主動物から飽血・離脱後10日目 (脱皮前) の若ダニでは増加した。次いで, 飽血。離脱後20日目 (脱皮後) にはそれらの発現は再び低下し, 飽血・離脱後3ヶ月目の未吸血成ダニでは増大することが明らかになった (図1)。また, これらの遺伝子は未吸血成ダニの全ての臓器で発現していた。

詳細なオートファジーの分子機構が解明されている酵母の *Saccharomyces cerevisiae* では, これまでに30種類のATG遺伝子が同定され, そのうち17遺伝子がオートファゴソーム autophagosome 形成に関わることが明らかにされている。フタトゲチマダニにおけるATG遺伝子の解明は緒に就いたばかりで, 現在は4種類のオートファジー関連遺伝子ホモログを単離したにすぎないが, Atg3はAtg8結合酵素として, またAtg4はAtg8 C末端加水分解酵素として, いずれもオートファジーの最初の段階で生じるAtg8タンパクのユビキチン様分子化に不可欠の分子である。またAtg12は, Atg5と複合体を作成し, Atg8とは別経路でオートファゴソーム前駆体の形成に関わるユビキチン類似分子であることが明らかにされている。したがって, フタトゲチマダニでも「オートファジー開始に必要な分子群」は, Atg5を除いて全てクローニングが完了し, その存在が確認されたことになる。このことは, これら4種類のオートファジー関連遺伝子ホモログの分子性状や動態の解明結果と併せて, (1) マダニにおけるオートファジー機構の存在が確実であることと, (2) マダニ体内のタンパクの代謝回転や飢餓耐性においてオートファジー機構が重要な役割を果たしていること, とともに強く示唆したものであり, 世界に先駆ける大きな発見と行うことができよう。

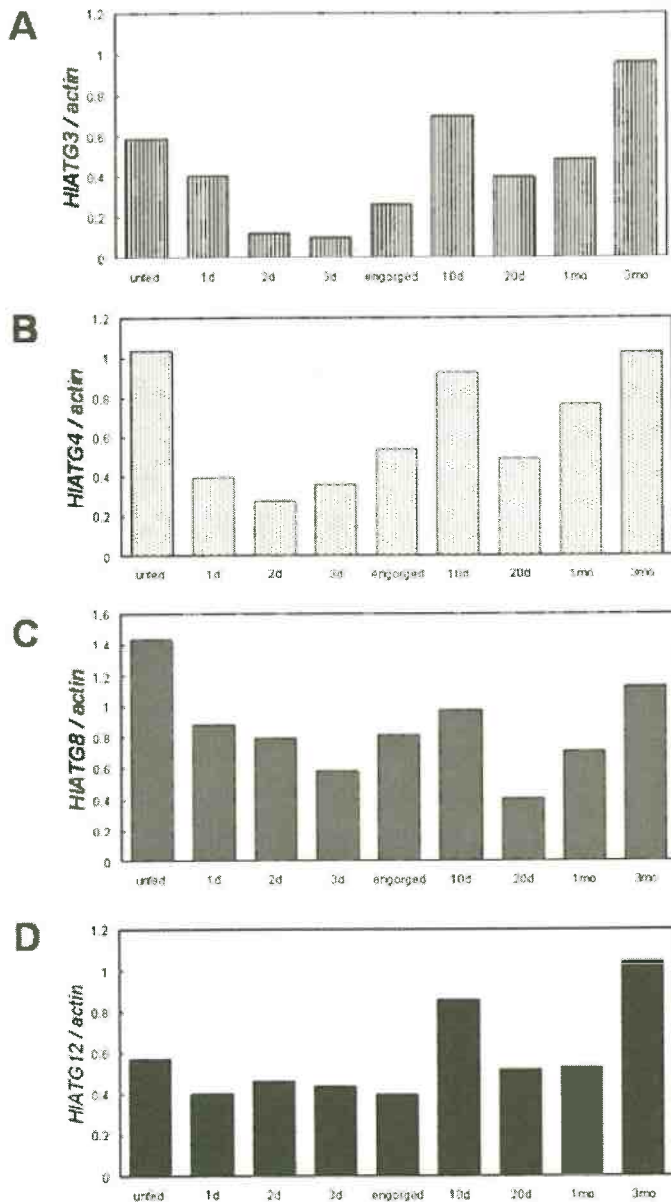


図1 若ダニ期から成ダニ期における HIATG-3, -4, -8, -12の各mRNAの発現動態

Unfedは未吸血若ダニ, 1d, 2d, 3dはそれぞれ吸血1, 2, 3日目の若ダニ, engorgedは飽血成ダニ, 10dは飽血後10日目, 1mo, 3moはそれぞれ脱皮後1, 3ヶ月目の成ダニを示す。

3. 中腸細胞内におけるオートファジータンパクの局在

Atg12タンパクは、細胞質内におけるオートファゴゾームの前駆体となる隔離膜 isolation membrane に局在し、隔離膜の形成にとりわけ重

要な役割を果たすことが、パン酵母の *S. cerevisiae* や線虫の *Caenorhabditis elegans* などのモデル生物で明らかにされている。未吸血成ダニの中腸細胞における内在性 HI Atg12 タンパクの局在についても、抗組換え体 HI Atg12 抗体を用いた蛍光抗体法と併せて、未吸血成ダニの中腸細胞の核画分、ミトコンドリア・ライソゾーム画分、膜・リポソーム画分、細胞質画分を作製し、これらの分画中の HI Atg12 タンパクの存否をウエスタンブロットによって検討したところ、いずれの手法においても内在性 HI Atg12 は、中腸上皮の細胞質に局在することが示された。

そこで、免疫電顕によって中腸の消化細胞内における内在性 HI Atg12 の subcellular な局在について調べたところ、細胞質内の様々な大きさを有する顆粒様構造物 dense granule ならびに透明な空胞 vacuole の周囲に、内在性 HI Atg12 の局在を示す陽性反応が認められた (図2)。HI Atg12 の局在が疑われるこれらの構造物は、ヒトや酵母で知られている典型的な隔離膜とは形態に若干の相違があるものの、オートファゴゾーム形成の初期段階のものと考えられ、マダニの中腸上皮においても、他で報告のある Atg12-Atg5 複合体による隔離膜形成プロセスが存在する可能性が強く示唆された。

4. 今後の研究展開

膨大な量の血液を摂取するマダニにおいては、

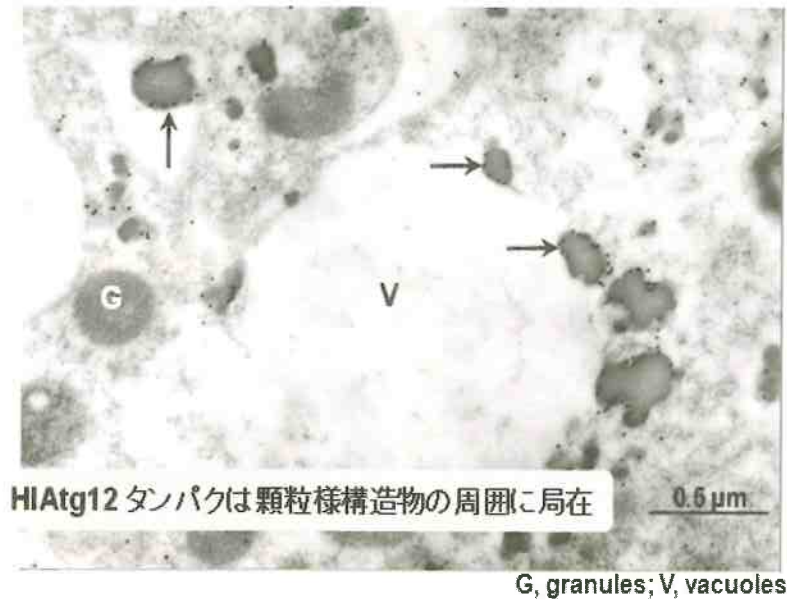


図2 中腸における内在型HIAtg12タンパク質の局在（矢印）を示す免疫電顕写真

過剰摂取された養分の一部が発揮する有毒作用に対する対応も、生存・疾病媒介を左右しかねない根幹問題であるとの視点から、私たちは、マダニが体内の過剰アミノ酸を処理するために活用していると思われる代謝機構についても、検討を開始している。過剰摂取による毒性が明らかになりジンについては、すでにマダニ体内における分解経路に関わる酵素のリジンケトグルタル酸レダクターゼ/サッカロピンデヒドロゲナーゼ (LKR/SDH) の単離を行うとともに、基本的な特性解明を終了している4)。

極めて興味あることに、LKR/SDHは遺伝子・タンパク質の両レベルで、飢餓に伴って顕著に発現が増大し、飢餓時のマダニ体内ではリジン

異化によるアミノ酸の糖・エネルギー変換が起きている可能性が示唆された。このことは、「飢餓耐性の生物 gorging-fasting organism」であるマダニには、第3の「養分活用メカニズム」である上述のオートファジーに加え、第4の「養分活用メカニズム」としてアミノ酸の糖・エネルギー変換も重要な役割を果たしており、その結果、他に例をみない傑出して優れた飢餓耐性能力がマダニに具備されるに至っている、との考察を可能にするものである。今後は、飢餓時のマダニ体内におけるオートファジー（アミノ酸創出）とアミノ酸代謝酵素と（糖エネルギー変換）のコラボ

レーション、さらにはこのコラボレーションとバベシアなどの病原体媒介との関わりについても、より定量的で詳細な解明を図る必要があると思われる。

文 献

- 1) Tsuji, N. et al. (2008) *PLoS Pathogens*, 4, e1000062.
- 2) Umemiya, R. et al. (2007) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 37, 975-984.
- 3) Umemiya, R. et al. (2008) *Autophagy*, 4, 79-81.
- 4) 藤崎幸蔵ら (2008) 特願2008-130019.

◀国内情報▶

長年の研究が実る！ ズワイガニの稚ガニ量産に一步前進

独立行政法人 水産総合研究センター 小浜栽培漁業センター
山本 岳男・藤本 宏・山田 達哉・高橋 庸一

小浜栽培漁業センターでは、1984年からズワイガニの種苗生産試験に取り組んでいるが、メガロパ期の大量減耗と飼育条件の未解明が稚ガニ量産への障害となっていた。そこで、基礎試験でメガロパ脱皮時の大量減耗の原因が水槽底の汚れであることを明らかにして防除方法を開発し、さらにメガロパ期の飼育に適した水温を明らかにした。これらの成果を量産規模で実証試験した結果、過去最多となる1.8万尾の稚ガニ生産に至った。

1. はじめに

ズワイガニはエビ目、クモガニ科、ズワイガニ属に分類され、日本の周辺ではオホーツク海、日本海、および千葉県犬吠埼以北の太平洋岸に分布し¹⁾、主漁場である日本海では、水深200～500mの陸棚斜面の縁辺部と日本海中央の大和堆に生息する²⁾。ズワイガニは石川県から鳥取県の各府県では冬期（11月から翌年3月）に底引き網で漁獲されており、この時期の底引き網での水揚げ金額の60%以上をズワイガニが占める²⁾など、本州沿岸の日本海域では非常に重要な水産資源である。当海域における漁獲量²⁾は、1960年代の1万5千トンをピークに1990年代には2千トンまで落ち込んだが、農林水産省令による漁獲規制に加え、漁業者自らが漁期や水揚げサイズ等を厳しく制限したことで、現在は5千トンまで回復している。しかし、ズワイガニが漁獲サイズに達するまでには10年前後かかると言われており¹⁾、一度減少した資源を回復させるには長期間を要する。そこで、資源回復の手段の一つとして期待される稚ガニの放流を目的に、小浜栽培漁業センターでは種苗生産技術の開発に取り組んでいる。

YAMAMOTO Takeo, FUJIMOTO Hiroshi, YAMADA Tatsuya, TAKAHASHI Yoh-ichi
〒917-0117 福井県小浜市泊26号

2. ズワイガニの生活史

ズワイガニの生活史を図1に示した。天然のズワイガニの幼生のふ化は、日本海では2月から3月がピークで、水深200～300m前後の海底に生息するメスの腹節内の卵から、プレゾエアとしてふ出する。プレゾエアは直ちに浮上して、ふ出から数十分後には第1齡ゾエアへと脱皮する。水深100m以浅に到達した幼生は、2～3ヶ月の浮遊幼生期を送りながら第1齡ゾエア、第2齡ゾエア、メガロパと脱皮を繰り返す、成長に伴い深海へと移動して水深300m付近で着底して稚ガニになると考えられている^{3,4)}。

各齡期の期間は、種苗生産試験で得られた知見によると、ふ出した幼生は第1齡および第2齡ゾエアで各15～20日間を過ごし、ふ出から30～40日でメガロパ、約2ヶ月で稚ガニになる。

3. ゾエア期の飼育条件の解明

小浜栽培漁業センターでは1984年から種苗生産試験を開始し、当初は量産を目的に大型水槽（容量20～50kL）を中心とした試験が行われてきたが、餌料や水温などの基礎的な飼育条件が十分に解明されなかったことに加え、根本的な問題として幼生が水槽の底に沈下して細菌感染症に罹病し、飼育開始から10日目までに大量

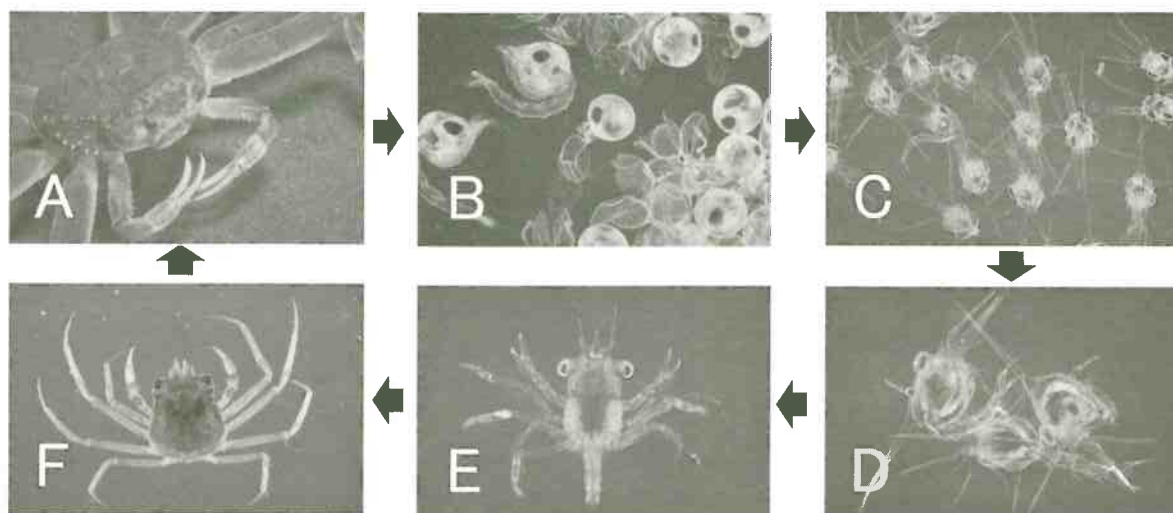


図1 ズワイガニの生活史

幼生は、親ガニ (A) からプレゾエア (B) としてふ出後、第1 齢ゾエア (C)、第2 齢ゾエア (D)、メガロパ (E) と脱皮を繰り返して稚ガニ (F) になる。

に死亡するという問題が解決できずメガロパまで飼育できない時期が続いた⁵⁾。

そこで、1994年からは技術開発の方向性を見直し、1~30L規模での基礎試験に取り組みゾエア期の飼育条件の解明を進めた。その結果、飼育に最も適した条件として、14℃の飼育水温が成長および生残の面で最も良いこと⁶⁾、餌料には多くの海産魚の種苗生産でも用いられている動物プランクトンのワムシとアルテミアを併用し、さらに餌料を栄養強化することで生残が向上すること⁷⁾が判明した。さらに、これらの飼育条件を量産規模での試験に応用する中で、ゾエア期の重要な飼育条件として、

- ①幼生の大量減耗につながる「ゾエアの沈下の防止」には、水槽に設置した攪拌機で水流を起こして幼生を浮遊させること^{8,9)}、
 - ②「第2 齢ゾエア以降の大量死亡の防除」には、ゾエアの活力を向上させる必要があり、主餌料であるワムシのEPA (エイコサペンタエン酸) とDHA (ドコサヘキサエン酸) による強化が必要で、その比率が重要であること (小金ら、未発表)、
 - ③直接の減耗要因となる「細菌感染症の対策」が必要なこと⁸⁾、
- の3条件を解明した。これらの条件を飼育に

組み入れることで生産技術の再現性および安定性が向上し、2003年以降は数万尾単位でメガロパを生産することが可能となり、ゾエア期の飼育技術はほぼ確立に至った。

4. メガロパから稚ガニへ

メガロパの生産量の増加に伴い稚ガニの生産数は2003年には6,800尾まで達したが、量産化への目安としていた1万尾を超えることはできなかった。このため、2006年からは次の段階としてメガロパへの脱皮時に見られる大量減耗を防除してメガロパの生産量を安定させること、およびメガロパ期の飼育条件を解明することを目的とした技術の開発に取り組んできた。

(1) メガロパ脱皮時の減耗要因の把握と防除

ゾエアを量産水槽 (容量20kL) で飼育した場合、メガロパへの脱皮が近くなるとほとんどの個体が水槽底へ沈下し、大量に死亡することが観察された。ゾエア期の飼育期間は約40日間と長いため水槽底面は残餌や排泄物等の沈殿物が多く溜まり、死亡個体は沈殿物に絡んでいた。そこで、まずは沈殿物と死亡状況の関係を基礎試験 (1L容器) により調査した。試験では脱皮

直前のゾエアを用い、沈殿物を容器の底面積の0（対照区）、1/4、および1/2に敷き詰める区を設けてメガロパへの脱皮率を比較した。その結果、脱皮率は対照区（83%）>1/4区（27%）>1/2区（0%）となり沈殿物の量が多いほど低下する傾向が認められ、沈殿物の悪影響が確認できた。

基礎試験の結果を受けて、量産水槽ではメガロパ脱皮前のゾエアを底の汚れが無い新しい水槽へ移す方法（移槽）を検討した。移槽方法は、すでにヒラメ¹⁰⁾ やトラフグ¹¹⁾ 等で確立されている光を利用した方法を改良し、上からの光を水中の30cm角の白色板で反射させてゾエアを蟄集させサイフォンの原理で移槽する方法を検討した。試験は20kL水槽で行ったところ、ゾエアの移動量（個体/分）は、反射板が無い場合には光の有無に関係なく約20個体/分と少なかったが、光と反射板の併用（図2）により約170個体/分まで格段に向上することが分かった。一方、サイフォン移槽では物理的な衝撃等によるゾエアの棘への損傷と死亡が考えられたことから、一部の個体を用いて移槽の前後での棘への損傷（折れ）と生残状況を比較したが、棘損傷および死亡はほとんど無く、移槽による影響は認められなかった。これらの手法の量産規模での実証として、メガロパ脱皮前のゾエアを用いて移槽の有無によるメガロパへの脱皮率を比較した。その結果、移槽した個体での脱皮率は71%となり、移槽しない従来の飼育手法（30%以下）よりも2倍以上向上した（表1）。

(2) メガロパ期の飼育水温の検討

メガロパ期は、これまでゾエア期と同様に水温14℃で飼育を行っていた。しかし、天然のメ

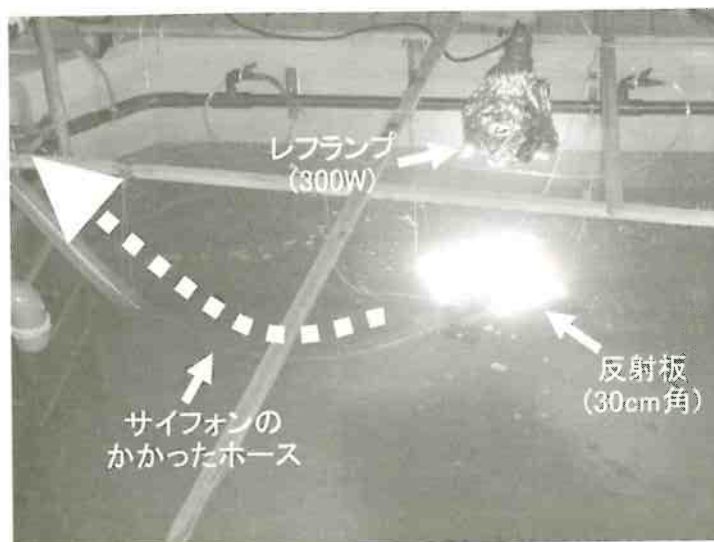


図2 ズワイガニの量産水槽におけるゾエアの移槽方法
ゾエアは上（レフランプ）と下（反射板）からの光で集め、サイフォンにより移槽する。点線矢印はホース内の幼生の移動方向を示す。

表1 メガロパ脱皮直前での移槽が脱皮率に与える影響

| 移槽 | 第2齡ゾエア 生残数(尾) | メガロパ 脱皮数(尾) | 脱皮率(%) |
|----|------------------|----------------|--------|
| 有り | 20,000 | 14,200 | 71.0 |
| 無し | 23,000 | 7,000 | 30.4 |
| 無し | 64,000 | 8,800 | 13.8 |
| 無し | 21,000 | 4,200 | 20.0 |

ガロパが分布するとされる水深200m前後の水温は6~7℃以下³⁾ であることから、メガロパはゾエアより低い水温に適応していると考えられた。そこで脱皮直後のメガロパを用いて基礎試験（100L水槽）を行った。試験では、飼育水温の14℃、11℃、8℃、5℃および3℃について生残状況と稚ガニへの脱皮状況を比較したところ、14~8℃の間では温度が低いほど稚ガニの出現率が高くなり、メガロパ期の飼育水温は8℃前後が適していることが分かった。一方、3℃および5℃は天然での生息水温の範囲内と考えられるが、稚ガニの出現率が8℃よりも著しく低下した。これは脱皮までの平均日数が8℃での約

表2 メガロパ期の飼育水温が稚ガニの出現率に与える影響（量産試験）

| 試験区 | 飼育水温 平均±SD | 飼育 水槽 | メガロパ 収容数(尾) | メガロパ収容 密度(尾/m ²) | 稚ガニ 出現数(尾) | 稚ガニ 出現率(%) |
|-----------|---------------|----------|----------------|---------------------------------|---------------|---------------|
| 冷却区-① | 9.5±1.1 | 6kL | 4,880 | 813 | 1,891 | 38.8 |
| 冷却区-② | 9.7±1.1 | 6kL | 5,090 | 848 | 3,391 | 66.6 |
| 冷却区-③ | 9.4±1.3 | 3kL | 3,400 | 680 | 2,216 | 65.2 |
| 冷却区合計(平均) | | | 13,370 | | 7,498 | (56.1) |
| 対照区-① | 12.7±0.9 | 6kL | 2,200 | 367 | 260 | 11.8 |
| 対照区-② | 12.3±1.0 | 6kL | 4,400 | 733 | 755 | 17.2 |
| 対照区-③ | 12.0±0.7 | 6kL | 4,050 | 675 | 1,074 | 26.5 |
| 対照区合計(平均) | | | 10,650 | | 2,089 | (19.6) |

30日に対して5℃では約60日、3℃では約80日と長くなったこと、低水温ほど餌料のアルテミアの活力低下と死亡が著しく飼育環境を悪化させたことが原因と考えられた。

次に、量産規模で飼育水温を低下させる効果を実証するため、飼育水を10℃以下に冷却した試験区（冷却区）と自然水温で飼育した区（対照区）で稚ガニまでの生残状況を比較した。試験には3～6kL水槽を用いて脱皮直後のメガロパを収容した。すべての個体が稚ガニに脱皮するまで飼育したところ（表2）、冷却区の稚ガニの出現率は平均56%（39～67%）となり、対照区の平均20%（12～27%）より大幅に向上した。

(3) メガロパ期の生物学的特性など

メガロパ期の基礎的な飼育条件として、メガロパが稚ガニになるまでの摂餌状態を調べた。個別に飼育したメガロパに、好餌料であるふ化ゾエアを毎日30～50個体与えたところ、稚ガニまでに約100個体のゾエアを摂餌すること、摂餌量はメガロパ脱皮直後から10日目頃までは増加するがその後減少し、稚ガニ脱皮直前にはほとんど摂餌しない結果が得られた。このことから、飼育では特にメガロパ期の初期に集中的

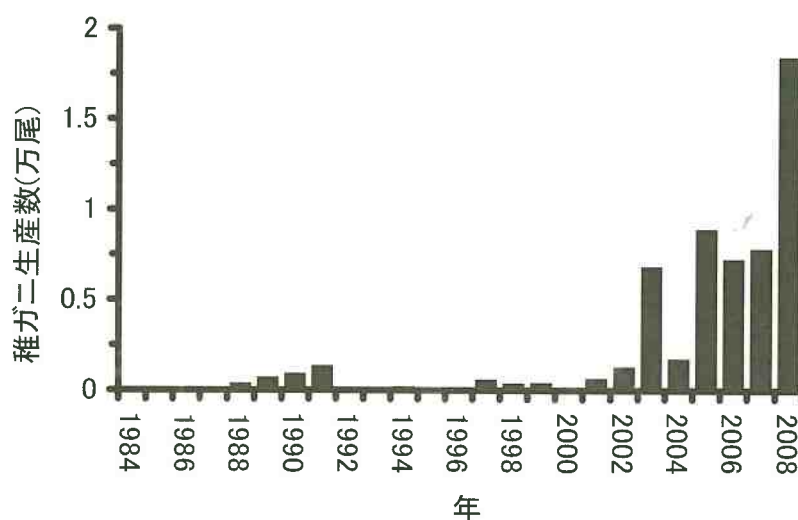


図3 小浜栽培漁業センターにおける第1 齢稚ガニの総生産数

に給餌する必要があることが分かった。また、メガロパ期には遊泳力が向上し、ふ化ゾエアなどのより大型の餌料を好むことから、共食¹²⁾が生じこれが減耗の原因になる可能性が指摘されている。このため、共食いの状況を観察したが、生きた個体間での共食いはほとんど観察されず減耗の大きな要因ではないと考えられた。

5. 稚ガニの量産結果と今後の方向性

本年度行った基礎試験と量産試験で得られた稚ガニの総生産数（図3）は、初めて量産化の目安とした1万尾を超えて18,412尾となり、稚

ガニの大量生産に向けて一步前進することができた。次の段階として、本年度の成果をより安定的な技術として確立するとともに、放流を目的として稚ガニ期の飼育条件の解明、および標識技術の開発を進める。これらの試験で得られた成果は、資源管理の一手法として保護礁等への放流試験に反映させるとともに、さらには天然海域でのズワイガニの生態解明へと発展させたいと考えている。

文 献

- 1) 三橋正基 (2005), 育てる漁業, 382, 3-7
- 2) 木下貴裕・養松郁子 (2008), 平成19年度我が国周辺水域の漁業資源評価, 445-484
- 3) 今 攸 (1980), 新潟大学理学部附属佐渡臨海実験所特別報告, 2, 1-64
- 4) Kon T. et al (2003), *Fish. Sci.*, 69, 1109-1115
- 5) 小金隆之 (2005), 月刊養殖, 533, 80-83
- 6) 小金隆之ら (2005), 日水誌, 71, 161-164
- 7) 野上欣也 (1999), 平成9年度日本栽培漁業協会事業年報, 236-240
- 8) 小金隆之ら (2007), 日水誌, 73, 226-232
- 9) Kogane, T. et al. (2007), *Fish. Sci.*, 73, 851-861
- 10) 高橋庸一 (1998), ヒラメの種苗生産マニュアル-「ほっとけ飼育」による飼育方法-, 32-34
- 11) 鴨志田正晃 (2003), 平成13年度日本栽培漁業協会事業年報, 213-214
- 12) 森田哲男ら (2007), 栽培漁業センター技報, 28-31

◀国内情報▶

加工食品中の「えび・かに」に由来するアレルギー 原因物質の混入を短時間で検出する簡易キットの開発

日水製薬株式会社 マーケティング部
田 中 誠 司

近年、食品の摂取由来でアレルギー症状を引き起こす、いわゆる“食物アレルギー”への対応として、アレルギー物質を含む加工品は、それを原材料として含むことを表示する制度が開始された。昨年までに、発症頻度や症状の重篤度から表示が義務化された“特定原材料”としては、乳・卵・小麦・そば・落花生の5項目であった。今年さらなる見直しが検討され、えび・かにが特定原材料として追加され計7項目となった。本稿では、食物アレルギーの原因食品に近年特定原材料として指定された甲殻類（えび、かに）に焦点をあて、その表示制度やアレルギー発症の実態調査結果などについて述べるとともに、検査技術の一つとして著者らが開発した食品中に含まれる甲殻類タンパク質を検出するキットについて紹介する。

1. はじめに

近年、食品衛生を取り巻く環境はめざましく変化しており、その1つに食品表示の法規制があげられる。食品の表示に関しては、食品衛生法、JAS法、景品表示法、健康増進法、計量法などの様々な法規制のもと、表示項目が定められている。その中で食品の主な表示として定められている法規制が食品衛生法とJAS法である。このように食品の表示に関しては、数種類の法律で規定されているが、「消費者の分かりやすさ」の観点のもと、枠内に一括して表示することが定められている。食物アレルギー物質の表示も食品衛生法により、平成13年4月より開始し、当初5品目であった表示義務化品目に今年「えび」と「かに」が追加され、計7品目の表示が義務化された。

平成11年3月に食品衛生調査会表示特別部会により、食物アレルギーによる危害を未然に防ぐために、食品の表示を通じて消費者に情報を提供することが必要と判断され、平成12年7月に特定原材料等の名称による表示制度が提案

TANAKA Seiji

〒110-8736 東京都台東区上野3-23-9

された。これを踏まえ、平成13年4月1日に特定原材料5品目のアレルギー表示が義務付けられ（表示義務品目）、特定原材料に準ずるものは19品目の表示が推奨されるようになった（表示奨励品目）¹⁾。その後も継続して実態調査や科学的研究が行なわれ、甲殻類（えび、かに）は平成17年即時型食物アレルギー全国モニタリング調査において、原因食物として第5位、ショック症状を誘発した原因食物では特定原材料5品目に次いで第6位であることが確認され、年齢群別（0歳群、1歳群、2～3歳群、4～6歳群、7～19歳群、20歳以上群）の初発症例の原因食物では、7～19歳群、20歳以上群で甲殻類（えび、かに）が第1位であることも確認された²⁾。

このような背景から、平成16年7月に開かれた「第18回食品の表示に関する共同会議」（厚生労働省；薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会表示部会食品表示調査会と農林水産省；農林物資規格調査会表示小委員会の共催）でアレルギー物質を含む食品に関する表示についての議論が行われ、実態調査より「えび」についてアレルギーの原因食品としての重要性が確認されたことから、詳細な技術的検討を開始する必要

性が報告された。その後、甲殻類（えび、かに）における臨床的エビデンスの蓄積、アレルギー物質の検査方法開発などの技術的検討が進められ、食品衛生法施行規則の一部を改正する省令が平成20年6月3日に公布され、アレルギー疾患を有する者の健康危害の発生を防止する観点から、「えび」又は「かに」を原材料とする加工食品等には、これらを原材料として含む旨の表示が必要となった。なお、本省令では平成22年6月3日までに製造、加工又は輸入されるものについては、これまでどおり推奨表示として取り扱うことができるが、当該期間内に製造、加工又は輸入されるものであっても、可能なものについては、表示をするよう努めることとされている。

2. 甲殻類のアレルゲン

甲殻類のアレルゲンとしては、トロポミオシン、アルギニンキナーゼおよびSarcoplasmic calcium-binding proteinなどが知られているが、主要アレルゲンとしてはトロポミオシンであるということが、甲殻類全般で確認されている³⁾。トロポミオシンは分子量3.5～3.8万のサブユニット2つからなる2量体で、アクチン、トロポニンとともに細い筋原繊維を構成しており、加熱に対して安定なタンパク質である。甲殻類間におけるトロポミオシンのアミノ酸配列の相同性は、えび類のブラウンシュリンプを、クルマエビ（えび類）、アメリカンロブスター（ざりがに類）、シマイシガニ（かに類）とそれぞれ比較したとき、すべて90%以上と非常に高い。また、日本標準商品分類上、その他の甲かく類（おきあみ類）に含まれるナンキョクオキアミも、えび類、かに類と90%以上のアミノ酸配列の相同性が報告されている。さらに、各種甲殻類のトロポミオシンはお互いに抗原交差性を示す^{3), 4)}。

一方、甲殻類以外とのアミノ酸配列の相同性は、上記と同じくブラウンシュリンプとの比較で、甲殻類と同じ節足動物であるゴキブリ類、ダニ類が約80%、軟体動物のたこ類、いか類、

貝類が60%程度で、いずれも抗原交差性が確認されている。脊椎動物の鳥類、哺乳類もアミノ酸配列の相同性は60%程度であるが、抗原交差性は確認されていない^{5), 6)}。

3. アレルギー物質の検査方法

厚生労働省通知法（通知法）における特定原材料の検査方法は、スクリーニング検査法として酵素免疫測定法（ELISA法；Enzyme-Linked Immunosorbent Assay）、確認試験としてウェスタンブロット法（WB法）又はPCR法が採用されている¹⁾。ELISA法は定量が可能な反面、交差反応が起こることがある。WB法やPCR法は特異性が高い反面、感度がELISA法に比べて劣る場合がある。また、近年簡便な検査法としてイムノクロマト法が自主検査法として利用され、アレルギー検査の一助をなしている。

このような状況の中で「えび」、「かに」の有用な検査方法として、著者らは食品中に含まれる甲殻類を検出する方法の検討を行い、甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンを測定対象タンパク質とした“FAテスト EIA-甲殻類「ニッスイ」”（図1）を開発した^{3), 7)}。本キットは甲殻類トロポミオシンに特異的に反応するモノクローナル抗体を用いることで甲殻類への特異性を向上させていることを特長としており、マイクロプレートに固相化した抗甲殻類トロポミオシンモノクローナル抗体と酵素標識した抗甲殻類トロポミオシンポリクローナル抗体とのサンドイッチELISA法を測定原理（図2）としたキットである。なお、このキットは厚生労働省通知によるガイドラインにしたがって検査室間バリデーションを実施し、検査キットの基準を満たしていることを確認している⁸⁾。後に、前述のELISA法と同一の抗体を利用し、簡易な検査方法であるイムノクロマト法による甲殻類検出キットである“FAテスト イムノクロマト-甲殻類「ニッスイ」”（図3）を開発した。



図1 ELISA キットの試薬構成

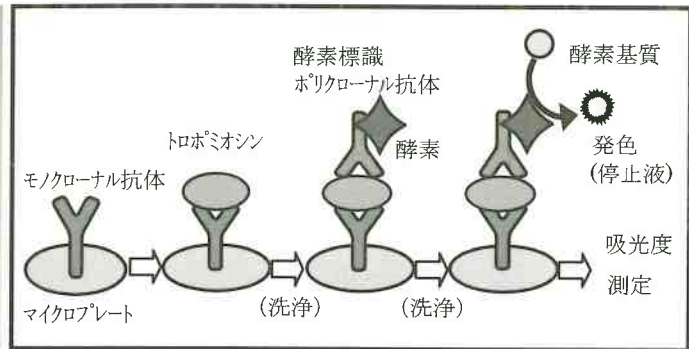


図2 測定原理



図3 イムノクロマトキットの試薬構成

4. イムノクロマト法検出キット“FAテスト イムノクロマト-甲殻類「ニッスイ」”の利用価値と特徴

イムノクロマト法は、食品からの抽出試料を希釈し、その後数十分で測定対象の定性結果が得られる簡便な測定法であり、ELISA法で必要となる高価な測定装置が不要である。その反面、定性試験であるため、その利用方法としては、自主検査として多く利用されている。

測定原理としては、図4の構造のように、感作金コロイド塗布部には、金コロイド結合抗甲殻類トロポミオシンポリクローナル抗体およびオリゴヌクレオチドI結合抗甲殻類トロポミオシンモノクローナル抗体が塗布されており、判

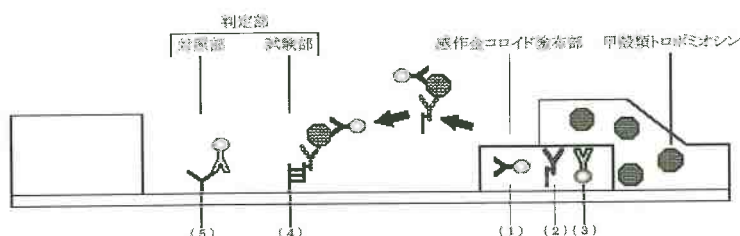
定部にはオリゴヌクレオチドI'結合タンパク質が固相化されている(オリゴヌクレオチドIとI'は互いに相補鎖をなしている)。甲殻類トロポミオシンを含む試料溶液を滴下すると、甲殻類トロポミオシンは感作金コロイド塗布部において金コロイド結合抗甲殻類トロポミオシンポリクローナル抗体とオリゴヌクレオチドI結合抗甲殻類トロポミオシンモノクローナル抗体と結合して複合体を形成する。次にクロマトグラフィー法の原理により移動したこれらの複合体が試験部(T)においてDNA-DNAの相互反応により固相化されているオリゴヌクレオチドI'に捕捉され、捕捉された複合体は金コロイドを含んでいるために金コロイドの着色(赤紫色ライン)が認められる。試料中に甲殻類トロポ

ミオシンが存在しない場合は、オリゴヌクレオチド I 結合抗甲殻類トロポミオシンモノクローナル抗体のみが捕捉されるため、試験部 (T) にラインが出現しない。一方、試料中の甲殻類トロポミオシンの有無にかかわらず試料溶液が正常に移動すると、対照部 (C) には赤紫色のラインが認められる。

上述のように、イムノクロマト法による甲殻類検出法は、食品からの抽出試料を滴下するだけで甲殻類由来アレルギー物質の有無を確認できるという、簡便な検査方法である。その利用方法は出荷段階の最終製品検査への一部利用は勿論のこと、製造中のコンタミネーション管理や製造後の器具等の洗浄度管理など様々な方法で用いられている。食物アレルギーの場合、表示義務濃度として食品中の総タンパク濃度として数 ppm 以上の場合と定められている。よって、微量な混入を管理することが重要であり、そのためには最終製品の検査のみでなく、工程中の微量アレルギー混入リスクの管理が非常に重要である。このようなリスク管理に際しては、その重要度によっても異なるが、煩雑な方法で実施することより、簡易な方法で定期的な実施することが現場としては望まれる。一例としてはイムノクロマト法により、調理器具等のふき取り検査を実施し、アレルギーの混入リスクを管理する方法などが近年多くの企業で実施されている。

5. イムノクロマト法検出キット “FA テスト イムノクロマト-甲殻類 「ニッスイ」” の性能

本キットに関する詳細および食品原材料等における反応性は、弊社のホームページ (<http://www.cosmokai.com/recommend/index.html>) にて公開し随時更新を図っているが、通知法における特定原材料のスクリーニング検査法であ



- (1) ; 金コロイド結合抗甲殻類トロポミオシンポリクローナル抗体
- (2) ; オリゴヌクレオチド I 結合抗甲殻類トロポミオシンモノクローナル抗体
- (3) ; 金コロイド結合タンパク質
- (4) ; オリゴヌクレオチド I' 結合タンパク質
- (5) ; 金コロイド結合タンパク質に対する抗体

図4 FA テストイムノクロマト-甲殻類の構造

る ELISA 法と比較して、反応性に関してはほぼ同等であることが確認されている。ここでは、特に ELISA 法と比較した場合に、注意が必要な性能について記述する。

イムノクロマトの判定方法は、所定の抽出操作を行った抽出液をキットに付属の希釈液にて 2 倍に希釈した後に、本試料 100 μ L をテストプレートに添加し、20 分間反応させ判定部に出現するラインの有無にて試料中のアレルギーが陽性か陰性を判定する (図5)。この方法にて感度試験を行った結果、表1に示すような食材によっても若干変動するが、食品中の総タンパク濃度として 1~5 ppm であることが確認された。次に、ELISA 法との抽出効率の比較のため、ELISA 法とイムノクロマト法の 2 種類の方法で推奨されている抽出方法に準じて調製した試料の測定を実施した。その結果、食品によっては抽出効率に問題の無いものもあるが、特に加工が強くかかった食品ではイムノクロマト法で推奨されている抽出方法では抽出効率が低下することが確認された (表2)。

このように、ELISA 法とイムノクロマト法ではそれぞれに特徴を有するため、時と場合に合った使い分けが重要だと考えられる。

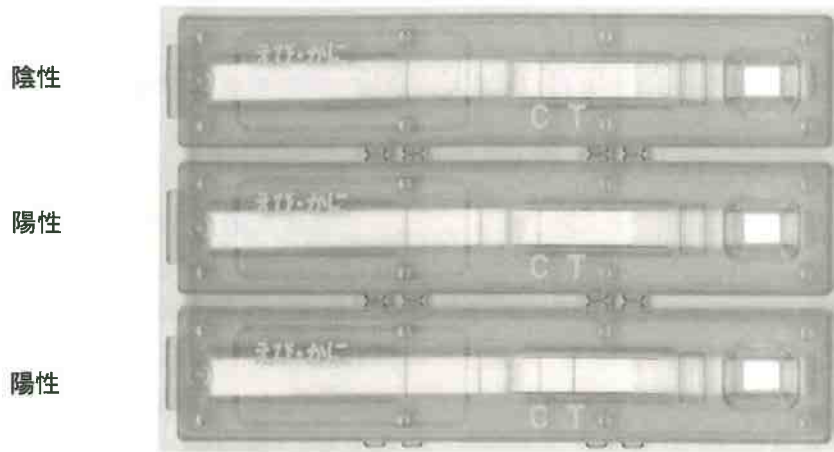


図5 イムノクロマト法の判定例

表1 感度試験結果

| | 検体希釈液 | トマトソース | クリーム コロッケ | シューマイ |
|-------|-------|--------|--------------|-------|
| 0ppm | - | - | - | - |
| 1ppm | + | + | + | - |
| 2ppm | + | + | + | - |
| 5ppm | + | + | + | + |
| 10ppm | + | + | + | + |

検出限界：1～5ppm

表2 抽出方法による抽出効率

| | イムノクロマト法 抽出 | EIA法 抽出 |
|----------------|----------------|------------|
| | 回収率(%) | 回収率(%) |
| エビフライ | 59% | 100% |
| カニシューマイ | 105% | 100% |
| エビふりかけ | 15% | 100% |
| カニ雑炊の素 | 109% | 100% |
| カニかまぼこ | 85% | 100% |
| エビ菓子 | 1% | 100% |
| エビ菓子(揚げ) | 15% | 100% |
| 炊き込みご飯の素(レトルト) | 74% | 100% |

※各法推奨の抽出液と抽出法を使用してEIAにて測定

6. おわりに

食物アレルギーの表示が義務化され既に数年が経過し、現在では多くの食物アレルギーを有する消費者から喜びの声もあげられている。食品製造企業としては、従来に無かった検査を追加実施することで大きな負担となっていると推察されるが、各種検査方法をうまく組み合わせることで、より精度良く、より効率的に意図しないアレルギー混入による健康被害を防止する必要がある。そのためには、日常的なリスク管理が重要であり、今回著者らが開発した甲殻類検出キットが、その検査の一助となれば幸いである。

文 献

- 1) 穂山浩ら (2002), 食品衛生研究, 52(6), 65-73
- 2) 海老澤元宏 他 (2006), 厚生労働科学研究費補助金 免疫・アレルギー疾患予防・治療研究事業 平成17年度総括・分担研究報告書
- 3) 宇理須厚雄ら (2006), 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 17年度総括・分担研究報告書
- 4) Motoyama, K. et al. (2007), J. Agric. Food Chem., 55, 985-991
- 5) Leung, P.S.C. et al. (1996), J. Allergy Clin. Immunol., 98, 954-961
- 6) 塩見一雄 (2003), 魚貝類とアレルギー, pp.88-113, 成山堂書店, 東京
- 7) 柴原裕亮ら (2007), 日本食品科学工学会誌, 54(6), 280-286
- 8) Sakai, S. et al. (2008), J. AOAC Int., 91(1), 123-129

◀ 地域の先端研究 ▶

タバココナジラミバイオタイプQによる
サヤインゲン白化莢の発生鹿児島県農業開発総合センター
上門 隆洋・大藪 正史

鹿児島県では、2006年および2007年に露地抑制栽培サヤインゲンを中心に白化莢が発生し問題となった。白化莢の原因と考えられるタバココナジラミバイオタイプBおよびQをサヤインゲンへ放飼し、再現試験を行ったところ、バイオタイプQの接種により、白化莢が発生することを確認した。白化莢は放飼葉より上位の花房に発生し、放飼葉に最も近い花房で最も明瞭であった。

1. はじめに

タバココナジラミ *Bemisia tabaci* (Gennadius) は世界の熱帯、亜熱帯を中心に広く分布し、多くの植物に寄生するとともにベゴモウイルスを媒介する重要害虫である。タバココナジラミは多数のバイオタイプが存在し、種複合体として扱われている¹⁾。日本に分布するタバココナジラミとして、西日本のスイカズラやサツマイモ等に生息するタバココナジラミバイオタイプ JpL *B. tabaci* JpL biotype, 沖縄県石垣島の在来系統であるタバココナジラミバイオタイプ Nauru *B. tabaci* Nauru biotype, タバココナジラミバイオタイプ B *B. tabaci* B biotype (以下、バイオタイプB) およびタバココナジラミバイオタイプ Q *B. tabaci* Q biotype (以下、バイオタイプQ) が報告^{2,3)} されている。中でもバイオタイプBは1991年頃に我が国への侵入が確認され⁴⁾、カボチャの白化葉(シルバーリーフ)やトマトの着色異常果など多くの作物に異常症を発生させることが知られている¹⁾。また、バイオタイプQは2004年に侵入が確認され²⁾、薬剤感受性が低く有効薬剤が少ないために多くの作物で防除に苦慮している。

KAMIKADO Takahiro, OOZONO Masafumi

〒899-3401 鹿児島県南さつま市金峰町大野
2200

鹿児島県では、2006年および2007年の10～11月に垂水市と錦江町の露地抑制栽培サヤインゲン *Phaseolus vulgaris* L. を中心に退緑または白化した莢(以下、白化莢)が発生し問題となった。タバココナジラミによるサヤインゲンの白化莢については、既に西東⁵⁾ による報告がある。その試験ではバイオタイプの判別は行われてなかったが、バイオタイプBの国内侵入時に試験が実施されていること、試験が実施された静岡県におけるバイオタイプQの発生が2004年以降であることから西東⁵⁾ が報告したタバココナジラミはバイオタイプBであると判断された。しかし、バイオタイプBは鹿児島県へ1991年に侵入したが、鹿児島県病害虫防除所の調査では2004年までサヤインゲンにおけるタバココナジラミの発生は比較的少なく、白化莢の発生も認められなかった。鹿児島県では、バイオタイプQの発生は2004年にトマトで初めて確認され²⁾、2006年にはサヤインゲンの白化莢が認められた錦江町を含む県内各地で確認された。サヤインゲンにおけるタバココナジラミの発生は白化莢の発生が問題となった2006年頃から増加し、白化莢の発生にバイオタイプQの関与も疑われた。そこで、白化莢の原因と考えられるバイオタイプBおよびQをサヤインゲンへ放飼し再現試験を行ったところ、バイオタイプQの接種により、白化莢が発生することを確認

認したので紹介したい。

2. サヤインゲンほ場での白化莢の発生状況

2007年11月に垂水市と錦江町の露地サヤインゲンほ場において、白化莢の発生状況を調査した。その結果、白化莢の発生が全ての調査ほ場で確認された。ほ場での白化莢率は50%以上と高く、収穫前のほ場でも認められた。白化莢の発生ほ場では、葉裏にタバココナジラミの幼虫が寄生しているのが認められた（データ省略）。上記幼虫のバイオタイプを調べたところ、垂水市ではバイオタイプBが、錦江町ではバイオタイプBおよびバイオタイプQの両タイプが確認された。

農家等からの聞き取りでは、白化莢は数年前から発生し、タバココナジラミの多発ほ場に多いとのことであった。また、白化莢は食味が悪いために市場評価が著しく悪いとのことであった。

3. タバココナジラミバイオタイプQおよびバイオタイプBの放飼による白化莢の再現

1) 放飼方法

放飼試験は、鹿児島県農業開発総合センターのガラス温室内で、2007年6月8日～7月27日（試験1）と2007年10月25日～11月29日

（試験2）の2回行った。バイオタイプQにはトマトほ場から採集し、キャベツとナスで累代飼育した個体群を、バイオタイプBにはナスほ場から採集し、キャベツで累代飼育した個体群を供試した。品種には、本県の主要品種で白化莢の発生が確認されている「ベストクロップキセラ」を選び、開花の始まった草丈20～30cmの株を1株ずつ鉢植えにして供試した。供試株の第1花房着生節位の2葉をナイロン製のゴース袋で1葉ずつ包み、各葉に成虫を50頭ずつ、すなわち1株当たり100頭を7日間放飼し、産卵させた。

2) バイオタイプQ放飼株

バイオタイプQを放飼したサヤインゲンには、試験1と試験2とも全ての供試株に白化莢が発生した（表1）。白化莢は、莢全体が退緑しており現地ほ場で観察された症状と同じであった。また、白化莢は放飼葉より上位の花房に発生し、放飼葉に最も近い花房で最も明瞭であった（図1）。発生部位が寄生葉の上位節である点は、バイオタイプBによるトマトの着色異常果⁶⁾と同じ傾向であった。試験1では、放飼20日後から白化莢の発生が認められ、収穫した218莢中157莢で発生した。試験2では、放飼24日後から白化莢が認められ、収穫した44莢のうち24莢で発生した。放飼葉の小葉当たりの幼虫数を試験1では放飼21日後に、試験2では放飼35日後に調査したところ、試験1では 64.3 ± 15.4 頭、試験2では 64.0 ± 3.2 頭であった。

表1 タバココナジラミの放飼によるサヤインゲンの白化莢の発生

| 試験時期 | バイオタイプ | 供試株数 | 白化莢発生株数 | 調査莢数 | 白化莢数 | 幼虫数 ¹⁾ (平均±標準誤差) | 主な幼虫齢期 | 蛹殻数 ¹⁾ |
|---------------------------------|--------|------|---------|------|------|--------------------------------|--------|-------------------|
| 2007年6月8日 ～7月27日 (試験1) | Q | 5 | 5 | 218 | 157 | 64.3 ± 15.4 | 4齢 | 20.2 ± 6.0 |
| | B | 4 | 0 | 252 | 0 | 44.3 ± 17.0 | 1～2齢 | 0 |
| | 無処理 | 4 | 0 | 121 | 0 | — | — | — |
| 2007年10月25日 ～11月29日 (試験2) | Q | 3 | 3 | 44 | 24 | 64.0 ± 3.2 | 4齢 | 1.0 ± 1.0 |
| | B | 3 | 0 | 32 | 0 | 66.0 ± 24.2 | 3齢 | 0.7 ± 0.7 |
| | 無処理 | 5 | 0 | 33 | 0 | — | — | — |

1) 放飼葉での虫数。試験1は放飼日21後に、試験2は放飼35日後に調査。

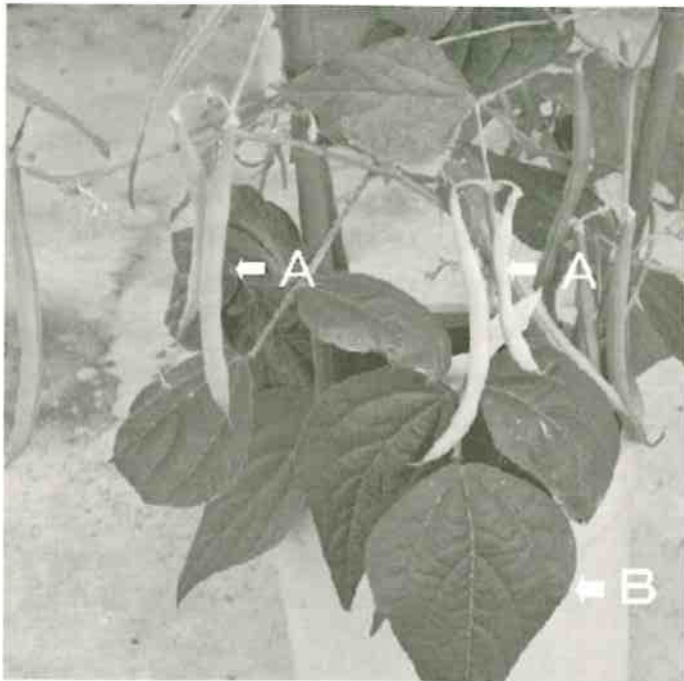


図1 タバココナジラミバイオタイプQ放飼株に発生した白化莢

A, 白化莢; B, 成虫を放飼した葉

主な齢期は試験1, 試験2ともに4齢幼虫であった。なお, 上記幼虫から羽化した成虫の一部を用いてバイオタイプを判別したが, 全てバイオタイプQであった。

バイオタイプQの寄生により白化莢が発生することが確認され, サヤインゲンほ場における白化莢の発生にバイオタイプQが関与していることが示唆された。これまでバイオタイプQによる異常症の報告はなく, 新たな知見である。これまでバイオタイプB以外に白化莢を含む異常症の報告はなく, 異常症の発生は本タイプだけが起こすと考えられてきた。しかし, バイオタイプMsによって発生するスクワッシュの白化症状が報告されたこと⁷⁾, 今回バイオタイプQによる白化莢の発生が確認されたことから, 異常症とバイオタイプの関係については見直しが必要である。

3) バイオタイプB放飼株

バイオタイプBを放飼したサヤインゲンには試験1, 試験2ともに白化莢の発生は認められ

なかった(表1)。放飼葉の小葉当たりの幼虫数は試験1が 44.3 ± 17.0 頭, 試験2が 66.0 ± 24.2 頭であった。主な齢期は試験1が1~2齢幼虫, 試験2が3齢幼虫であった。羽化殻は試験1では認められなかったが, 試験2では小葉当たり 0.7 ± 0.7 個であった。いずれの試験でもバイオタイプ間で幼虫の寄生密度に大きな差は認められなかったが, 発育はバイオタイプQに比べてBで明らかに遅延していた。なお, 上記幼虫から羽化した成虫の一部を用いてバイオタイプの判別を行ったが, 全てバイオタイプBであった。

今回の放飼試験でバイオタイプBによる白化莢の発生は認められなかった。しかし, 西東⁵⁾がバイオタイプBが侵入した時期にタバココナジラミの寄生で白化莢が発生することを確認していることや, 2008年3月にバイオタイプQの発生が確認されてない与論島

で白化莢発生株にバイオタイプBの寄生を確認したことから, バイオタイプBでも白化莢が発生すると考えられる。また, ダイズにおける白化莢の発生には幼虫密度が関与することや⁸⁾, トマトの着色異常果の発生には幼虫密度と齢期の関与が示唆されている⁶⁾。試験1, 試験2ともにバイオタイプQに比べてバイオタイプBの発育は遅延していた。今回の試験で, バイオタイプBによる白化莢の発生が認められなかった原因として, 幼虫の齢期が影響した可能性がある。

4. おわりに

サヤインゲンほ場での白化莢の発生は, 今回の放飼試験や白化莢発生ほ場におけるタバココナジラミのバイオタイプ調査結果等から, バイオタイプQとバイオタイプBが関与していると考えられる。今後, 両バイオタイプの白化莢発現能力を含めて, 密度と齢期が白化莢の発生に

及ぼす影響について検討する必要がある。また、防除対策を講じるために必要な、発生ほ場におけるタバココナジラミのバイオタイプの構成比および密度、白化莢の発生推移なども調査が必要である。

文 献

- 1) Perring, T. M.(2001), *Crop Protection* 20, 725-737
- 2) Ueda, S. and J. Brown(2006), *Phytoparasitica* 34, 405-411
- 3) 上田ら (2007), 第51回応用動物昆虫学会講演要旨, p.91
- 4) 外間也子ら (1991), 平成3年度植物病理昆虫学会綱要, p. 216
- 5) 西東 力 (1992), 今月の農業36(8), 69-71.
- 6) 松井正春 (1992), 応動昆36, 47-49.
- 7) Delatte, H. et al, Peterschmitt(2005), *Bulletin of Entomological Research* 95, 29-35.
- 8) 青木克典 (1994), 関西病害虫報36, 43-44.

◀文献情報▶

Busulfanの徐放性エマルジョンによる
レシピエント胚の不妊化処理により、キ
メラ生殖巣のドナー由来始原生殖細胞
の割合が増加する

Increased proportion of donor primordial germ cells in
chimeric gonads by sterilisation of recipient embryos
using busulfan sustained-release emulsion in chickens.

Y. Nakamura^{A,B}, Y. Yamamoto^A, F. Usui^A, Y. Atsumi^A,
Y. Ito^A, T. Ono^A, K. Takeda^B, K. Nirasawa^B, H.
Kagami^A and T. Tagami^B

^AShinshu University, ^BNational Institute of Livestock and
Grassland Science.

Reproduction, Fertility and Development, 20,
900-907, 2008

始原生殖細胞のレシピエント胚への移植により、
これまでに生殖系列キメラの鳥類が作出されてきて
いる。この方法は、遺伝子組換え鳥の作出や、卵子
の長期保存が困難な希少な鳥類の保存のためにも、
重要な手法である。しかしながら、現時点では、生
殖系列キメラによる遺伝子組換え鳥や希少な種類の
鳥の作出効率は非常に低く、生殖系列キメラにおけ
るドナー始原生殖細胞由来産子の作出効率の向上が
求められている。ドナー由来産子の比率は、レシピ
エント胚におけるドナーとレシピエント由来始原生
殖細胞の比率により決定されている可能性があること
から、レシピエント胚の内在性始原生殖細胞の除
去がキメラ生殖巣のドナー由来始原生殖細胞の比率
を高めるための重要な方法の一つであると考えられ
る。Busulfanは、哺乳動物において、生殖細胞の移
動中に不妊化を引き起こす。Busulfanは、鳥類の発
育胚においても同様の効果をもたらすが、その効果
の程度は非常に可変的である。Busulfanは水や油に
対する溶解性が低いいため、発生胚において一定量
のbusulfanを作用させることは難しい。近年、
N,N-dimethylformamideとごま油との等量混合液の
エマルジョンにより可溶化したbusulfanを卵黄内に
投与することにより、内在性の始原生殖細胞を減少
させることが報告された。しかしながら、この方法
は、N,N-dimethylformamideとごま油が短い時間に分

離するため、一定量のbusulfanを作用させる能力に
乏しかった。徐放性エマルジョンの利用は、内在性
の始原生殖細胞を減少させるための有効な手段と考
えられることから、この論文においては、レシピエ
ント胚生殖巣中の内在性始原生殖細胞を除去し、ド
ナー始原生殖細胞の比率を高めるために、徐放性エ
マルジョンの利用によるBusulfanの効果的なデリバ
リーシステムが検討された。Busulfanを
N,N-dimethylformamideに溶解したのちに、Ca²⁺、
Mg²⁺不含リン酸緩衝食塩液で10%に希釈したもの
と、ごま油を等量混合してエマルジョンが作成され
た。その後、75 μg/50 μlのbusulfanの徐放性エマルジ
ョンが卵黄内に注入された。培養6日後におけるホ
ールマウント標本の免疫染色により、生殖巣内の始
原生殖細胞の減少率と再構築率が決定された。Busulfanの徐放性エマルジョンの投与により、有意
($p<0.05$)に内在性の始原生殖細胞が減少した。さら
に、busulfanの徐放性エマルジョンにおいて、これ
まで報告されているbusulfanのデリバリーシステム
よりも内在性の始原生殖細胞を安定して減少させる
ことができたことから、busulfanの徐放性エマルジ
ョンは、発育途上のトリ胚へbusulfanを一定量作用
させることが可能であることが明らかとなった。始
原生殖細胞の投与試験において、busulfanの徐放性
エマルジョン投与区における、投与6日後のドナー
始原生殖細胞の割合は、対照区に比べて28倍も増加
した。以上の結果から、busulfanの徐放性エマルジ
ョンを用いて内在性始原生殖細胞を除去した生殖巣
に、移植したドナー始原生殖細胞が定着可能である
ことが明らかとなった。

鳥類において、卵の凍結による長期保存は困難で
あり、遺伝資源保存のためにも始原生殖細胞の凍結
保存が有望視されているが、保存した始原生殖細胞
の有効活用のためには、始原生殖細胞を用いた効率
的な生殖巣キメラの作出技術の開発が求められてい
た。今回の報告は、生殖巣キメラの効率的作出を可
能とし、遺伝資源の保存・再生のみならず、遺伝子
組換え鳥生産のためにも有効に使える可能性がある
ことから、さらなる研究の進展に期待したい。
(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▶

特定の転写因子の発現により
トマト果実の健康促進アント
シアニン含量が増加する

Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors.

E. Buteli¹, L. Titta², M. Giorgio², H.P. Mock³, A. Matros³, S. Peterek³, E. GWM Shijlen⁴, R. D Hall⁵, A. G Bovy⁴, J. Luo¹ and C. Martin¹.

¹John Innes Centre, Norwich, UK, ²European Institute of Oncology, Milano, Italy, ³Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany, ⁴Plant Research International, Business Unit Bioscience, Wageningen, The Netherlands, ⁵Center for BioSystems Genomics, Wageningen, The Netherlands.

Nature Biotechnology, 26, 1301-1308 (2008).

植物界に広く存在するアントシアニンは、ポリフェノールに分類されるフラボノイド系色素である。抗酸化作用を持つ物質として知られ、摂取することにより癌や心臓血管疾患等の様々な疾患に対して防御的効果を示すことが明らかとなりつつある。しかし、このアントシアニン類による健康促進効果を十分に得るためには、比較的多くのアントシアニンを摂取する必要がある。我々が日頃口にする野菜や果物に含まれるアントシアニン含量では不十分であると考えられてきた。

本研究において材料としたトマトは、世界中で広く栽培されているとともにトマト果実では脂肪親和性の抗酸化物質であるリコピンが大量に含まれている。一方で親水性の抗酸化物質であるフラボノイド含量が低いことから、これまでもフラボノイド含量の増加に関する研究が行われてきた。しかしながら、果実中のアントシアニン量を効果的に増加させるには至っていなかった。

本研究で執筆者らは、キンギョソウから単離

された2つの転写因子(Delila, Roseal)をトマトの果実特異的プロモーター制御下で発現させることによって、果実中のアントシアニン含量が増加した紫色のトマトを作出することに成功した。Delila (*Del*), Roseal(*Ros1*) 両転写因子は直接結合し、キンギョソウの花においてアントシアニン生合成を誘導することが知られている。導入された形質は、後代に安定して遺伝し、交雑によって別の品種に導入することが可能であった。このトマト果実のアントシアニン含有量は、ブラックベリーやブルーベリーなどの高アントシアニン含有食物に匹敵する程であった。次に、導入した2つの転写因子によるトマトの内在遺伝子発現の変化を調べるため、発現解析を行った。その結果、アントシアニン生合成に関わるほぼすべての遺伝子から、側鎖修飾に関わる遺伝子、細胞内移動に関わるトランスポーターにいたるまでの遺伝子発現上昇が確認された。このことから、キンギョソウから単離された*Del*, *Ros1* 両転写因子は、トマト内在性のアントシアニン蓄積に関係する遺伝子群を効果的に誘導していることが明らかになった。また、この形質転換トマトの親水性抗酸化能は、野生型の3倍程度まで上昇していることが明らかとなった。

さらに本研究ではパイロット実験として、*Trp53*^{-/-}ノックアウトマウスを用いた動物実験を行っている。p53 遺伝子は、癌抑制遺伝子として知られ、この遺伝子のノックアウトマウスでは癌の自然発生率が高まり、その結果として野生型マウスに比べて寿命が短くなる。この*Trp53*^{-/-}ノックアウトマウスに対して、本研究により作出された高アントシアニントマトを凍結乾燥後、餌に10%程混ぜて与えたところ平均寿命が優位に延長した。

(抄訳：高田美信, TAKADA Yoshinobu, 東北大学大学院 生命科学研究所)

◀文献情報▶

微生物の共生因子は腸の炎症性疾患を防止する

A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease

Sarkis K. Mazmanian^{1*}, June L. Round^{1*} & Dennis L. Kasper^{2,3}

¹Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena, California 91125, USA.

²Channing Laboratory, Brigham & Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115, USA. ³Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115, USA. *These authors contributed equally to this work.

Nature, 453, 620-625, 2008

ヒトには、生物分類の6界のうちの5界に属する共生生物が多数定着している。ヒトの消化管には100兆個以上、1,000種以上の微生物が共生しているとされている。また、消化管には有益な微生物と病原となる可能性がある微生物の両方が常在している。それら多くの腸内細菌が一種の生態系をつくり、腸内細菌叢を構成している。腸内細菌叢は、「隠れた臓器 (forgotten organ)」と呼ばれ、多くの生理機能を有し、ヒトの生体に大きな影響を与えている。

細菌叢異常 (dysbiosis) として知られる、細菌叢の不均衡は、炎症性腸疾患などのヒト疾患の主要な因子であると考えられている。本論文では、ヒトのよく知られた共生細菌である *Bacteroides fragilis* が、病原となりうる片利共生細菌 *Helicobacter hepaticus* により誘発される実験的大腸炎から動物を防御することを報告している。この有益な活性に必要なのは、微生物のもつたった1つの分子、PSA (polysaccharide A) である。PSA を発現しているワイルドタイプの *B. fragilis* が共生しているマウスでは、*H. hepaticus* が定着しても、結腸組織での疾患や炎症性サイトカイン産生が抑制されるが、PSA

を発現していない *B. fragilis* の場合、疾患や炎症性サイトカインの産生は抑制されない。

また、精製PSAを動物に経口投与した場合も *in vitro* での培養細胞に投与した場合も、腸免疫細胞による炎症性インターロイキン17の産生を抑制する。さらに、PSAはCD4⁺T細胞によるインターロイキン10産生を誘導する。この抗炎症性サイトカインの産生によって炎症をおさえている。骨髄由来抗原提示細胞とT細胞を *H. hepaticus* に感染させて共培養するとき、PSAを投与すると炎症性サイトカインの増加が抑制される。しかし、インターロイキン10の阻害剤である抗インターロイキン10受容体抗体をPSAと同時に投与すると、炎症性サイトカインの増加は抑制されない。このことは、PSAはインターロイキン10の産生誘導とその機能によって、炎症を抑えていることを示している。

本論文の結果は、腸内の細菌叢の分子が健康と疾患の間の重要なバランスに影響することを明らかにしている。PSAのような共生因子の免疫調節を用いれば、全く新しい生物学的原理に基づくヒトの炎症性疾患の治療法がもたらされるかもしれない。

(抄訳：若井丈人, WAKAI Taketo, カルピス株式会社 健康・機能性食品開発研究所)

◀文献情報▶

キチンはアレルギーに関連する先天性免疫細胞の組織集積を誘導する

Chitin Induces Accumulation in Tissue of Innate Immune Cells Associated with Allergy

Tiffany A. Reese¹, Hong-Erh Liang¹, Andrew M. Tager², Andrew D. Luster², Nico Van Rooijen³, David Voehringer¹ † & Richard M. Locksley¹¹Howard Hughes Medical Institute, Departments of Medicine and Microbiology/Immunology, University of California San Francisco, San Francisco, California 94143-0795, USA.²Division of Rheumatology, Allergy and Immunology, Centre for Immunology and Inflammatory Diseases, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Charlestown, Massachusetts 02129, USA.³Department of Molecular Cell Biology, Vrije Universiteit, 1091BT, Amsterdam, The Netherlands.

† Present address: Institute for Immunology, University of Munich, Munich D-80336, Germany.

Nature, 407, 92-96 (2007)

キチンはN-アセチルグルコサミンのポリマーであり、自然界に2番目に多く存在するバイオマスである。キチンはエビ・カニやダニ等の節足動物の外骨格や、カビ等の真菌の表層成分を構成し、その形状の維持に重要な役割を果たしている。また、これらの生物種由来物質はヒトのアレルギー反応を引き起こすことが知られている。これまで、これら動物種由来のアレルギー原因物質はタンパク質であると考えられてきた。

今回、ハワードヒューズ医学研究所のReeseらのグループの研究により、キチンがアレルギー反応に関連する免疫細胞の組織への集積を誘導することが見出された。Reeseらはまず、マウスの尻尾の根元から消化管寄生蠕虫である*N. brasiliensis*を感染させた。その結果、マウスの

肺で哺乳類キチナーゼファミリーのAMCaseおよびYM2の発現上昇が確認された。しかしAMCaseの発現量は、*N. brasiliensis*がマウスの肺に感染後数時間で到達するにもかかわらず、感染後9日目で最大となった。これは、蠕虫がマウスの肺でキチンを含む殻を脱皮する際に、AMCaseの発現の上昇が見られることを示唆している。

次にキチンの経鼻および腹腔内投与をマウスに行い、アレルギー反応に関わる免疫細胞の組織への集積を確認した。その結果、キチンを投与された器官で好酸球および好塩基球の集積が確認された。これらの細胞の集積は、免疫反応を引き起こすリポ多糖(LPS)を投与した場合の集積とは異なっていた。また、AMCase処理したキチンを投与、もしくはAMCaseを過剰発現したマウスにキチンを投与した場合には、組織への免疫細胞の集積は見られなかった。つまりキチン特異的な免疫細胞の集積が存在することが示唆された。

これまでの知見で、LPSはToll様受容体(TLR)を介した免疫反応を引き起こすことが知られている。しかし、TLRやMyD88をノックアウトしたマウスにおいて、キチンによる細胞集積が確認されたことから、免疫細胞の集積はToll経路とは別の経路で活性化されることが判明した。また、AMCaseの発現を制御するStat6およびRagノックアウトマウスでも、キチンによる免疫細胞の集積が確認された。次に、骨髄由来マクロファージおよびRAW267.1マクロファージをキチンと反応させ、その上清を用いて好酸球の走化性を確認した。その結果、ロイコトリエン産生阻害剤であるMK886存在下では、マクロファージからのキチンによる走化性物質の分泌が抑制された。T細胞の集積には、マクロファージ上に存在するロイコトリエンB4受容体であるBLT1が重要な役割を果たす。さらに、BLT1のノックアウトマウスでは、キチンによる免疫細胞の集積は起こらなかった。つまり、BLT1がキチンによる免疫細胞集積に重要な役割を果たすことが示唆された。

蠕虫を感染させたマウスの肺や、キチンを加えた肺・腹腔を観察した結果、マクロファージがキチンの存在する組織に集積することも確認された。また、キチナーゼを過剰に発現するマウスではマクロファージはキチンに集積しないこと、そしてキチンを加えた組織では組織駐在型のマクロファージが活性化していることが明らかとなった。このことから、組織存在型のマクロファージがキチンを速やかに認識すること

で、BLT1依存的な走化性物質が放出され、好酸球・好塩基球の集積が起こることが示唆された。

以上のデータより、キチンそのものがアレルギー反応に関与していること、またこの反応は哺乳類のキチナーゼであるAMCaseにより制御される可能性が示唆された。

(抄訳：飯島 学, IJIMA Manabu, 日本水産株式会社 中央研究所)



バックナンバーのご案内
第 130 号
2008 年 11 月 15 日発行

総 説

ラクトフェリンの構造, 機能とその応用 島崎 敬一

総説関連情報

ウシラクトフェリンと骨芽細胞による骨様組織の形成 高山 喜晴

国内情報

イネの粒幅を決める遺伝子の単離とジャポニカイネの栽培化過程の推測 小西 左江子・正村 純彦・江花 薫子・矢野 昌裕・井澤 毅
米粉パンに適した鍵因子を探る - 米粉用イネの画期的な品種開発を目指して 川越 靖
遺伝子組換え樹木の野外試験 - キシログルカナーゼの過剰発現による高セルロース含量ポプラ -

..... 谷口 亨・林 隆久
自脱型コンバインの事故事例と安全装備の実態に関する農業者調査結果 富田 宗樹・川瀬 芳順・水上 智道・高橋 正光・塚本 茂善

地域の先端研究

業務用軟弱野菜の刈り取り再生栽培法 岩崎 泰史

文献情報

妊娠初期のヒツジの子宮以外の組織における Interferon (IFN)-Stimulated Genes の発現は, 子宮静脈からの IFN- τ の内分泌的な移行により引き起こされる (抄訳: 下司 雅也)
テルペノイド系の新規植物ホルモンは枝分かれを抑制する (抄訳: 高田 美信)
Histoplasma capsulatum α -(1,3)-glucan は β -glucan レセプターによる自然免疫認識を妨げる (抄訳: 水谷 治)
皮下脂肪移植による代謝改善作用 (抄訳: 竹内 啓明)



バックナンバーのご案内
第129号
2008年9月15日発行

総説

生分解性プラスチック分解微生物はどこにいるか?
..... 北本 宏子

国内情報

DNA マーキングによる栄養繁殖作物の品種・産地判別
..... 松山 知樹
質量分析情報を総合的に活用した代謝物アノテーション法の開発 青木 考・飯島 陽子・柴田 大輔
遺伝子組換えカイコによる組換えタンパク質の大量生産ーヒト型ゼラチンの生産例を中心にー 富田 正浩
養豚で発生する汚水からリンを除去回収し、リン酸肥料として再利用する技術を開発 鈴木 一好・脇屋 裕一郎・古田 祥知子・川村 英輔・竹本 稔・安里 直和・眞境名 元次

天然油脂由来非イオン系界面活性剤を用いたスギ花粉飛散抑制技術の開発 小塩 海平・山仲 藍子・嶋田 昌彦・椎野 太二郎・鶴岡 邦昭・柴山 俊朗
精度の高い施肥作業を支援する「可変施肥装置」の開発
..... 西村 洋・林 和信・堀尾 光広・紺屋 秀之・松尾 陽介・濱田 安之

文献情報

マウス胚の着床前の初期発生にはオートファジーが不可欠である (抄訳: 下司 雅也)
イネ栽培化過程において穀粒幅を決める遺伝子の欠失が収量の増加をもたらした (抄訳: 高田 美信)
シロアリ後腸生物叢のメタゲノム解析 (抄訳: 安田 源太郎)
イカのくちばしに見るミスマッチな組織のつなぎ方 (抄訳: 足立 亨介)



バックナンバーのご案内
第128号
2008年7月15日発行

特集「イネをめぐる先端研究」

- 1 ジーンターゲットングによるイネの分子育種
..... 土岐 精一・清水 力・遠藤 真咲・雑賀 啓明・阿部 清美・刑部 敬史
- 2 RNA サイレンシングの経路を介したイネの茎頂分裂組織構築機構 佐藤 豊・野坂 実鈴・伊藤 純一
- 3 開花せずに受粉するイネとそのしくみ
..... 吉田 均・長戸 康郎

国内情報

クモが出す糸の成分を蚕に組み入れ、強度や伸縮性に優れた「スパイダーシルク」を開発 中垣 雅雄
簡便で高感度なフタトゲチマダニの小型ピロプラズマ原虫保有率検査法
..... 寺田 裕・金平 克史・大田 方人・神尾 次彦

魚や肉の鮮度を簡便・迅速に測定する「鮮度チェッカー」 佐藤 実
野菜接ぎ木装置用自動給苗ユニットの開発
..... 小林 研・石綿 陽子・重松 健太・大越 崇博
地域の先端研究

農作物を病害から護る「乳酸菌農薬」の開発
..... 津田 和久・小坂 能尚・梅村 賢司・三富 正明・辻 元人・久保 康之

文献情報

新鮮な卵丘細胞の核と体内成熟卵あるいは体外成熟卵の細胞質を用いたウシの核移植 (抄訳: 下司 雅也)
シロイヌナズナでの減数分裂を伴わない配偶子形成 (抄訳: 高田 美信)
麴菌の非同組換え修復に関する *ligD* 遺伝子の欠損は遺伝子ターゲットング効率を著しく上昇させる (抄訳: 水谷 治)
キンギョでのニワトリ生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン II による摂食への抑制効果 (抄訳: 奥野 敦朗)

編集後記

131号をお届けします。本号の総説では篠田徹郎氏（農業生物資源研究所）に昆虫の幼若ホルモンネットワーク遺伝子の解明と制御についてご紹介戴きました。

その他の研究情報としては、藤野賢治氏（ホクレン農業協同組合連合会）に低温下でもイネの発芽を向上させる遺伝子の発見、鈴木保宏氏（作物研究所）に米の古米臭の原因となる酵素の有無を判別するDNAマーカーの開発、林宣之氏（野菜茶業研究所）に味覚センサーを用いた緑茶の滋味（味わい）の客観的評価技術、藤崎幸蔵氏（鹿児島大学）らにマダニの飢餓耐性機構に必要なオートファジー遺伝子の同定、山本岳男氏（小浜栽培漁業センター）らにズワイガニの稚ガニ量産に向けた試験研究、田中誠司氏（日水製菓（株））に加工食品中の「えび・かに」由来アレルギー原因物質の簡易検出キットの開発、上門隆洋氏（鹿児島県農業開発総合センター）らにタバココナジラミバイオタイプQによるサヤインゲン白化莢の発生について、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）、高田美信氏（東北大学）、若井丈人氏（カルピス（株））、飯島学氏（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**
- 技術シーズ開発のための基礎研究や
応用・発展研究及びベンチャー創業を目指すなら **イノベーション創出基礎的研究推進事業**

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131号

平成21年1月15日発行

発行人 曾根 則人

編集人 浅野 将人

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/>