

National Institute of Agrobiological Sciences



農業生物資源研究所 ニュース No.8

CONTENTS

研究トピックス

マトリックス分解酵素(MMPs)発現を指標とした卵胞の正常性の判定法
腫瘍壊死因子(TNF- α)を欠損したミクログリア細胞株の樹立
マルチプレックスPCR法によるヒメハナカメムシ類5種の簡易識別法
果実採取用桑品種「ポップベリー」
イネ完全長cDNAクローンの収集、配列解析、データベースの作成
転写因子機能を利用して遺伝子組換え植物の花粉飛散を防ぐ方法
お米のタンパク顆粒が光った！種子貯蔵タンパク質の輸送メカニズムの解明に向けて
ブタ肝臓の解毒酵素を組み込んだ新しいイネ

特集 イネゲノム研究の展開

イネゲノム塩基配列、重要部分の解読終了を宣言
イネゲノム研究を土台にIRRIとの研究協力を開始

会議報告

第5回バイオ胎盤シンポジウム「胎盤：その機能と組織工学的再構築」
生物研/COE国際シンポジウム「植物代謝：分子メカニズムと改変」
国際シンポジウム「ジベレリン・ブラシノステロイド情報伝達の分子機構」
ミレニアム植物科学研究プロジェクト研究成果報告会(2002年)・生物研COEシンポジウム

イベント報告

つくば科学フェスティバル2002
第13回放射線育種場一般公開

特許権等取得一覧



小泉首相、記念式典でイネゲノム塩基配列重要部分の解読終了を宣言(記事は9ページ)。



当研究所は国際イネ研究所(IRRI)と共同研究を開始。写真は調印式の模様(IRRIのカントレル所長 左、当研究所の岩淵理事長 右)(記事は10ページ)。

研究トピックス
TOPICS

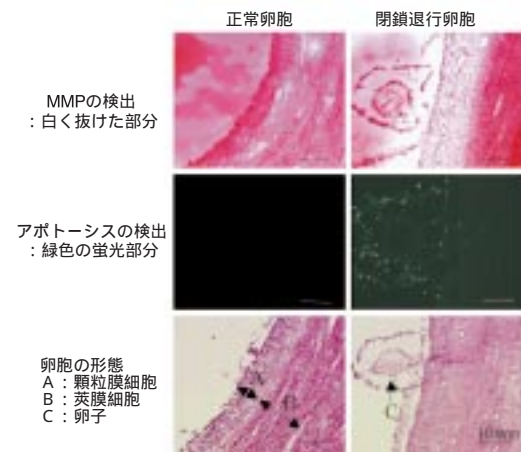
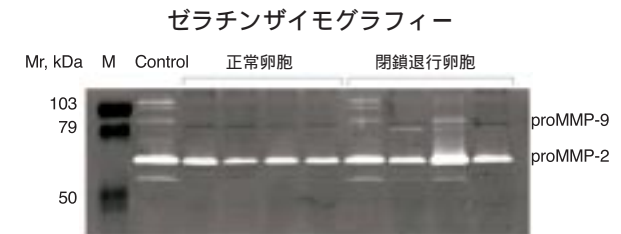
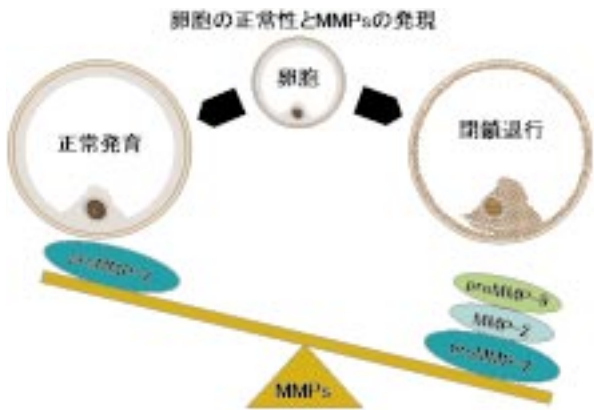
マトリックス分解酵素(MMPs)発現を指標とした卵胞の正常性の判定法

動物の卵子が育つもとの組織である卵胞の正常性を調べることは、繁殖障害牛の診断、過剰排卵処理による胚の採取および卵子の体外受精への応用等に関連する重要なことです。卵胞の発育から排卵および閉鎖退行には細胞外マトリックスの改変が必須であり、MMPsは細胞外マトリックスの改変に重要な役割を果たす酵素です。特に、顆粒膜細胞のアポトーシスを伴う退行閉鎖にはMMPsが関与していると考えられることから、卵胞および卵子の正常性とMMPs発現の関係について検討しました。

ゼラチンゼイモグラフィーによる検索の結果、すべての卵胞液中には非活性型のproMMP-2が存在し、その濃度は正常な卵胞で低く、閉鎖に向かっていく卵胞で有意に高くなることが判明しました。あわせて、正常卵胞には活性型MMP-2および非活性型のproMMP-9は検出されませんが、閉鎖に向かっていく卵胞や変性卵子の存在する卵胞では活性型MMP-2および非活性型のproMMP-9が検出されるものがありました。また、Film in situ zymography (FIZ)とTUNELを用いたアポトーシスとの関連性では、アポトーシスを起こしている顆粒膜細胞あるいは卵胞莖膜細胞からMMPsが発現していることがわかりました。さらに、体外受精に用いる大きさの直径4-5mmの卵胞より採取した卵胞液のFIZによる検査と卵子の成熟率を比較したところ、MMPsの検

出強度が強い卵胞由来の卵子は、検出強度が弱い卵胞由来の卵子と比較して、成熟培養後の成熟率が低く、変性率が高いことが明らかとなりました。一方、卵胞液中のステロイドホルモンは正常卵胞でエストロゲン(E2)が、閉鎖退行卵胞で黄体形成ホルモン(LH)が高いことも明らかとなりました。

これらのことより、卵胞液中の活性型MMP-2および非活性型proMMP-9をゼラチンゼイモグラフィーまたはFIZで検出した卵胞は、閉鎖退行に向かっており、含まれる卵子および顆粒膜細胞も変性過程にあることが予想されます。これらのMMPsを指標とすることで卵胞の正常性が判別できることが示されました。



ことばの解説

細胞外マトリックス：細胞を固定、接着させる細胞外基質で、コラーゲン、プロテオグリカン、ゼラチン、フィブロネクチン、ラミニン、エラスチン等を含みます。

MMPs：細胞外マトリックスを分解する酵素の総称で、組織破壊および改変に重要な役割を果たしています。MMP-2はゼラチナーゼでタイプI、IV、V等のコラーゲン、フィブロネクチン、エラスチン、プロテオグリカンを含む多くの基質を切断します。72kDaのプロエンザイムが切断されて66kDaの活性型になります。MMP-9はゼラチン、プロテオグリカン、エラスチンだけでなくタイプIV、V、VII、Xを含む広範囲の基質に特異性を示します。

アポトーシス：アポトーシスはあらかじめプログラムされた細胞死のことで、細胞壊死(ネクローシス)と対照的な細胞死の様式です。アポトーシスに陥った細胞は収縮し、核が濃縮し断片化します。

ひとこと

卵胞の発育と閉鎖退行を制御できれば、卵胞卵子の有効利用が可能となり、家畜の育種改良に役立ちます。



発生分化研究グループ生殖再生研究チーム主任研究官：今井 敬(左)、チーム長：橋爪一善(右)

研究

トピックス
TOPICS腫瘍壊死因子(TNF-)を欠損した
ミクログリア細胞株の樹立

動物の脳にあるグリア細胞の一種であるミクログリアは、脳内に病原体が侵入した場合にすばやく応答する、あるいは傷ついて死んだ神経細胞を取り除くなど生体防御の役割をもっています。しかし、過剰に反応したミクログリアが健全な神経細胞に障害を与えることもあり、ミクログリアの機能調節のしくみを知ることは大事です。活性化されたミクログリアから放出されるサイトカインの一つに腫瘍壊死因子(TNF-)が知られており、この物質は免疫応答や細胞死の誘導に重要なはたらきをしています。本研究ではミクログリアの機能におけるTNF- の役割をさぐるために、TNF- 遺伝子を壊したマウスからミクログリアの細胞株を樹立しました。

やり方としては、まずTNF- 遺伝子欠損マウス新生子の脳を細かくきざみ、消化酵素トリプシンで処理してばらばらにした脳細胞をフラスコで培養します。ミクログリアが増殖してくる培養9~11日目に、がん遺伝子*c-myc*を含むマウス白血病レトロウイルスベクターを感染させます。培養12日目に培養フラスコを振とうしてミクログリアを浮遊させたあと、付着性に富むミクログリアだけを回収します。がん遺伝子が入った細胞を抗生物質ネオマイシン入り培地で選択的に増殖させ、これらの細胞をクローニングして細胞株を樹立しました。

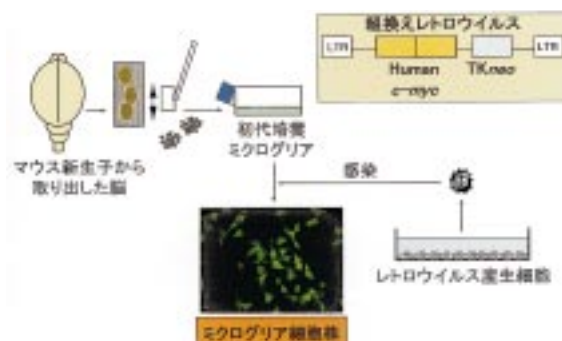
樹立したミクログリア細胞株(TKMG-7)は初代培養ミクログリアにきわめて似た形態をとり、約34時間で2倍に増えました。また、培地に加えたマイクロビーズを活発に貪食し、特異的なマーカーであるMac-1やF4/80分子を発現していました。

ことばの解説

ミクログリア：マクロファージによく似た性質をもつ脳内グリア細胞の一種。炎症や感染に敏感に反応して種々のサイトカインを放出し、脳内の生体防御反応に中心的な役割を果たします。

腫瘍壊死因子(TNF-)：主にマクロファージから出されるサイトカイン。がん細胞を直接殺す作用のほか、免疫機能を増強して生体防御反応の調節に中心的な役割を果たします。

レトロウイルスベクター：哺乳類細胞に遺伝子を導入するために用いる「運び手」。レトロウイルスの殻の中に導入したい遺伝子を入れて宿主細胞に感染させます。ウイルスの逆転写酵素のはたらきにより、遺伝子を宿主染色体に効率よく組み込むことができます。



ミクログリアの初代培養と細胞株の樹立

細菌成分であるリポポリサッカライド(LPS)で活性化されると、MHCクラスII抗原を発現して免疫応答する、一緒に培養した神経細胞を殺す、など初代培養ミクログリアのもつ性質をよく保持していましたが、LPSで刺激してもTNF- は全く産生しませんでした。一方、同じ手法で樹立した野生型マウス由来のミクログリア細胞株では大量のTNF- が放出されました。これらの細胞株の特性を比較することで、ミクログリアのさまざまな機能におけるTNF- の役割をさぐるができると考えられます。

ミクログリア細胞株が作出されたことにより、均一な実験材料がいつでもどこでも安定的に供給されるだけでなく、培養実験のたびにマウス新生子を犠牲にしなくてすむので動物実験倫理上のメリットもあると考えられます。さらに樹立されたミクログリア細胞株は、脳の病気を治すための医薬品や遺伝子を脳内へ届けるための「運び手」として利用できる可能性もあります。

ひとこと

生体防御に関わる機能性細胞株を作出することは、さまざまな免疫機能の解析のための材料提供として重要です。今回の手法は家畜細胞の株化にも応用できると考えています。

生体防御研究グループ分子免疫研究
チーム長：木谷 裕

研究 **T**
トピックス
TOPICS

マルチプレックスPCR法による
ヒメハナカメムシ類5種の簡易識別法

近年、化学農薬の使用による人体や環境への影響への懸念から、害虫防除のための天敵利用が増加しています。ヒメハナカメムシ類は、アザミウマなどの微小な農業害虫の有力な捕食性天敵として注目されています。

日本には主に5種のヒメハナカメムシ類が分布しています(図1)。これら5種はさまざまな特性が異なり、それぞれ異なった場面で害虫を防除できると考えられています。天敵農薬としての利用を効率的に行うには、それらの特性をよく評価して、防除したい害虫や作物に適した種類や系統を使わなくてはなりません。しかし、そういった調査は、まだ十分に行われているとはいえません。

ヒメハナカメムシ類の形態はよく似ていて識別が難しいために、これまではたくさんのサンプルを調査することが困難でした。また、識別は雄成虫を解剖して交尾器を調べて行いますので、雌成虫での識別は困難です。そこで簡便な識別法が求められていましたが、今回、マルチプレックスPCRによって種の識別を行う方法を開発しましたので以下に紹介します。

解析には核ゲノム中のrDNA(リボソームRNA遺伝子)の非コード領域であるITS1(Internal Transcribed Spacer 1)を用いました。ナミ(「ナミ

ヒメハナカメムシ」の略、他も同様)、タイリク、ツヤの3種は増幅される領域の長さが同じくらいなので、それぞれに特異的な領域を同時に増幅するようにしました。その結果、5種で異なるバンドパターンを検出でき、識別手法として有効でした(図2)。この方法によって効率的に多数のサンプルを識別できるようになり、また、成虫だけではなく、卵や幼虫、あるいは成虫の足1本でも識別できるようになりました。

日本に分布するヒメハナカメムシ類の種識別が性別や発育ステージを問わず可能となったため、野外での種構成調査等、種の特性解明の調査を簡便におこなえるようになりました。さらに、この作業過程でDNAを抽出していますので、サンプルからそのまま他の遺伝子マーカーの検出も可能になっています。現在、私たちは、野外の集団間の遺伝子交流の調査を開始しています。こうした方法によって天敵研究が進展し、効率的な天敵の利用法の開発につながると思います。



図1：日本に分布する5種のヒメハナカメムシ類

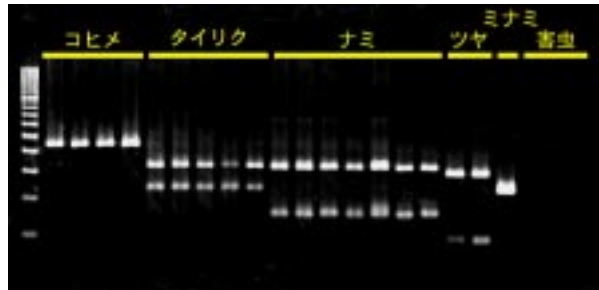


図2：マルチプレックスPCRによって増幅したDNAを電気泳動したもの。種によってバンドパターンが異なり、容易に識別可能。

ひとこと

安全に害虫防除をするためには、天敵利用は必須です。効率的な天敵利用法開発に向けてさまざまな天敵のDNA研究を進めていきたいと考えています。

ことばの解説

生物農薬：病害虫や雑草の防除に利用される天敵昆虫類や微生物。害虫の天敵には、害虫を食べるもの(捕食性天敵)、害虫に寄生して殺すもの(寄生性天敵)、害虫を病気にさせるもの(病原微生物)などがあります。

ヒメハナカメムシ類：体長2mm程度の小さなカメムシで、アザミウマなどの捕食性天敵です。日本には主に、ナミヒメハナカメムシ、タイリクヒメハナカメムシ、コヒメハナカメムシ、ツヤヒメハナカメムシ、ミナミヒメハナカメムシの5種が分布しています。はじめの2種は、すでに生物農薬として市販されています。

マルチプレックスPCR法：PCR法とは、生物の遺伝子情報が含まれているDNAを、短時間に増幅できる方法です。マルチプレックスPCRでは、一度に複数の遺伝子領域を増幅します。増幅したDNAは、電気泳動によって、長さの違いを検出します。



昆虫適応遺伝研究グループ天敵昆虫研究チーム：日本典秀(右下)、野田隆志(左下)、昆虫分子進化研究チーム：村路雅彦(左上)、前天敵昆虫研究室長：川崎建次郎(右上；現生体機能研究グループ長)

研究トピックス TOPICS

果実採取用桑品種「ポップベリー」

桑はこれまで蚕の飼料作物として位置づけられてきましたが、近年は他の用途への利用についても研究が進められており、特に食材化については、すでに桑茶、ジャムなど、商品化されているものもあります。

このような背景から、当研究所で遺伝資源として保存している桑品種・系統の中から果実生産に適するとみられる数品種を選び出し、公表したところ、それらを地域活性化の素材として利用したいとの要望が多数寄せられました。そこで、桑果実生産の普及を図るため、果樹としての適性をさらに強化した新品种を育成しました。

桑新品种「ポップベリー」は、遺伝資源の中から、果実生産用に有望な品種として選定されている桑品種「大唐桑」の生長点にコルヒチン処理を行い、倍数体化を図ったのちに増殖し、果実特性等について調査を行い、育成されたものです。

この品種は開花年限に達するのが早く、植えた翌年から果実収穫が可能です。植えつけ4年目の着果数は、育成素材の「大唐桑」より少なくなっていますが、果実の重量は平均で約7g、最大では15gを越えており、従来の桑果実のイメージを打ち破るほど大粒化しています。果実収量は「大唐桑」より約60%多く、豊産性も認められます。

果実の糖度は「大唐桑」よりやや低く、9%程度です。しかし、酸味が少ないため、ジャム等の加工用ばかりでなく、家庭用果樹として生食にも適すると考えられます。

「ポップベリー」は積雪地および沖縄地方を除く広い地域に適応しますが、春の発芽が早いいため、凍霜害の常襲地では適切な管理を行う必要があります。また、桑果実に含まれるアントシアニンは、活性酸素消去能があることが知られており、今後果実成分について詳細な解析が進めば機能性食品として、本品種の需要がさらに拡大する可能性があります。



「ポップベリー」の着果状況

ひとこと

「ポップベリー」は新たに育成された果実採取専用の桑品種であり、地域活性化のための素材として活用されることを期待しています。



昆虫生産工学研究グループ増殖システム
研究チーム主任研究官：小山朗夫

ことばの解説

遺伝資源：農産物や医薬品の素材としたり、地球環境保護に利用するために保存されている遺伝的に多様な生物群を遺伝資源とよびます。近年環境等の変化により、多くの生物種が失われつつあり、遺伝資源収集・保存の重要性が一層指摘されています。

コルヒチン：ユリ科植物の一種から抽出された物質で、細胞の倍数体化を図る際に古くから用いられています。

倍数体：通常の生物は遺伝情報を含む染色体を両親から1組ずつ受け継いで計2組もっており、2倍体と称しますが、3組以上の染色体を有する場合は倍数体として区別します。

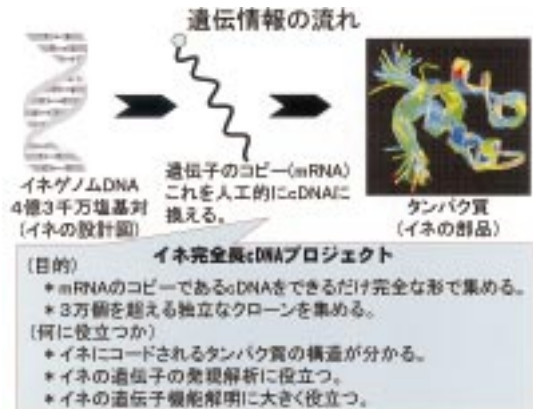
研究 TOPICS

イネ完全長cDNAクローンの収集、配列解析、データベースの作成

イネに関して2002年はエポックメイキングな年でした。4月にはホールゲノムショットガン法によるゲノム解読結果が報告され、12月には精度の高い方法による重要部分の解読終了宣言がなされました。ゲノム解読の結果からコンピューターである程度の予測はできますが、遺伝子の構造や機能についてはさらなる研究が必要です。第1期のイネゲノムプロジェクトでは6万ほどのmRNAのコピー(cDNAクローン)が単離され、部分構造が解析され、ゲノムへのマッピングが行われました。しかし、cDNAがmRNAの全長をカバーしていない、クローン数が遺伝子総数に比べると少ない等の問題点がありました。そこで、できるだけ完全な長さのcDNAを、できるだけたくさん集める目的(当初目標は3万の独立したクローン)で開始されたのが「イネ完全長cDNAプロジェクト」です。

わが国の独自の技術である完全長cDNAライブラリー作製技術をイネに応用するために国際科学振興財団と理化学研究所のグループとチームをつくり、平成11年度の補正予算で当初5年計画で開始されました。多くの発現遺伝子を集めるため、植物の組織、あるいはいろいろな処理をした植物体からライブラリーをつくり、17万クローンをひろい、クローンの両端から1度だけ配列解析を行いました(シングルパス配列)。これを元にして、同じ配列のクローンをクラスター化し、代表クローンを選びました。この結果、3万2千種類の代表選手が選ばれました。平成13年度末にはそれらの全クローンの全長読みされた結果が出ました。

このうち2万8千種類について既登録の配列との相同性検索をおこなった結果、約75%の配列



が相同性をもつことがわかりました。また、ゲノム上の遺伝子数(転写単位)としては20,500位であること、コードされるタンパク質の予想アミノ酸配列から他のゲノム構造が決まっている真核生物にコードされているタンパク質のアミノ酸配列との比較を行いました。高頻度で出現するプロテインキナーゼ等はその生物でも共通であることが確認されました。さらに、イネとシロイヌナズナの比較では種子に特異的なタンパク質やある種類のストレス応答性タンパク質はイネに特異的であること、シロイヌナズナではあるタイプの病原抵抗性遺伝子が増幅しているがイネではそういったことがないことなど、興味深い知見が得られました。

これらのクローン毎の情報はデータベースとしてまとめられ、今年4月にWEB上で公開され、また各クローンについても配布されるよう準備中です。こういったクローンやそれらの情報が今後のイネの遺伝子の機能を明らかにする研究に役立つことが期待されています。

ひとこと

イネ完全長cDNAプロジェクトは世界に先駆けて日本のチームが行った成果です。基礎研究にも応用研究にとっても非常に重要なツールであると思います。



分子遺伝研究グループ遺伝子発現研究チーム長：菊池尚志

ことばの解説

ホールゲノムショットガン法：ゲノムの塩基配列を決める方法として、最初からゲノム全体のDNAを細かい断片に分け、塩基配列解析を行い計算機上で配列情報をつなぎ合わせる方法を「ホールゲノムショットガン法」といいます。

mRNA：タンパク質がつくられる際にDNAから1度mRNAに情報がコピーされ(転写)、それがリボソームにおいて、アミノ酸配列に翻訳され、タンパク質が合成されます。mRNAは1本鎖のリボヌクレオチドがつながったものです。

cDNA：mRNAは非常に不安定な物質なので、逆転写酵素を用いてmRNAから1度、2重鎖のDNAに戻したものをcDNAとよびます。

転写因子機能を利用して遺伝子組換え植物の花粉飛散を防ぐ方法

遺伝子組換え植物の実用化に際し、花粉の飛散による在来品種や野生種との交雑から組換え遺伝子が拡散する可能性が懸念されることから、その防止策として組換え植物の雄性不稔化が強く求められています。私たちはペチュニアのジンクフィンガー(ZF)型転写因子遺伝子の機能を解析した結果、葯に特異的に発現している2種類のZF型転写因子(TAZ1およびMEZ1)が花粉の稔性に関連した機能を有しており、そのことを利用して植物を雄性不稔化できることを明らかにしました。

TAZ1は減数分裂期に入るとタペート層に局在して発現するZF遺伝子です(図中のA)。遺伝子機能を調べるため、CaMV35Sプロモーターの制御下にTAZ1をペチュニアに再導入し、コサプレッションによって内在性TAZ1遺伝子の発現を抑制すると、タペート層の発達が途中で止まり、崩壊し始めることがわかりました。その結果、フラボノールなど細胞壁成分の供給が途絶えることが原因で花粉の発達に大きな影響を与え、大部分の花粉が成熟前に死滅しました(図中のB、C)。わずかに生き残った花粉もフラボノールの欠損のためか花粉管を伸長できないことがわかりました。これらの結果はTAZ1がタペート層の発達に必要な役割

を果たしていることを示しています。

別のZF遺伝子MEZ1は減数分裂直前に花粉母細胞に特異的に発現しています。上記と同様にMEZ1の発現を抑制すると、花粉の減数分裂過程において染色体凝集と分配の異常が認められ、ついで半数体細胞への分裂の際に不均等な染色体分配や過剰な細胞分裂が起こり、ほとんどの細胞が死滅して雄性不稔になることがわかりました。また、MEZ1遺伝子が発現抑制されている形質転換体は、非形質転換体からの正常な花粉を受粉させると、受精は起こりますが胚発生が途中で停止するため、雌性不稔形質も併せもつことがわかりました。種子の発達過程を詳しく調べると、雌性減数分裂には異常がなく、本来起こらない胚乳内の細胞壁形成が胚発生停止の間接的原因であることがわかりました。

この研究によって、ZF遺伝子の機能を抑制することによって雄性不稔形質を導入し、組換え遺伝子の環境への拡散を防止できることが示されました。この方法を他植物に応用するにはその植物から対応する遺伝子を単離する必要がありますが、TAZ1やMEZ1の遺伝子改変により、他植物にも容易に利用できる方法に改良できる可能性もあると考えています。

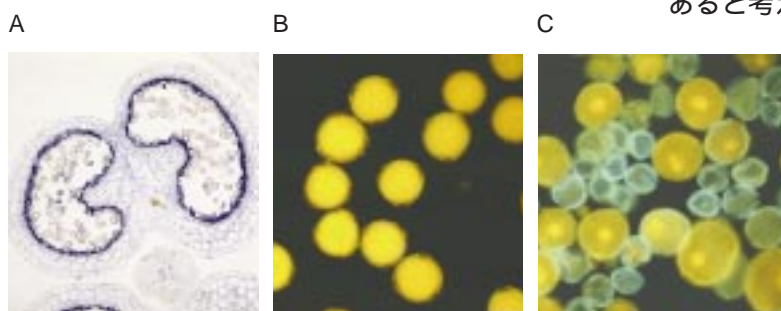


図. TAZ1遺伝子の発現パターンと機能。

- A. TAZ1遺伝子はタペート層特異的に発現している (in situ hybridization)。
 B. 正常な花粉細胞。黄色の発色はフラボノール特異的染色による。
 C. TAZ1遺伝子コサプレッション形質転換体の花粉。多くの細胞が破裂しており、生き残った細胞のフラボノール蓄積量はきわめて低い。

ことばの解説

コサプレッション：導入遺伝子の高発現の結果、塩基配列が相同の内在性遺伝子が mRNA 分解を介して発現抑制する現象。

ひとつこと
 転写因子の遺伝子进行操作すると劇的な変化が植物に表れることが多く、その中には有用な形質がしばしば含まれます。



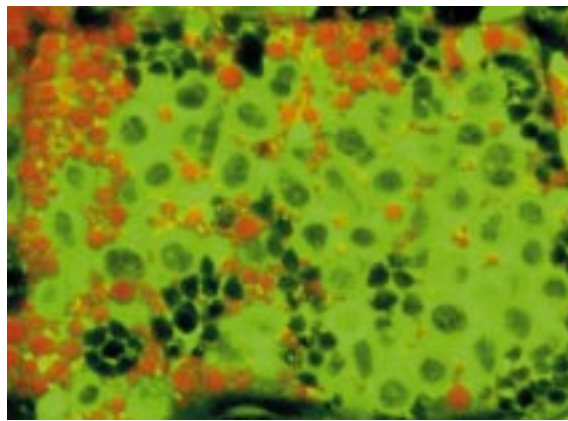
生理機能研究グループ形態発生研究チーム長：高辻博志(左)、生研基礎特別研究員：サンジャイ・カプール(右)

研究 **T**
トピックス
TOPICS

お米のタンパク顆粒が光った！種子貯蔵タンパク質の輸送メカニズムの解明に向けて

お米がデンプンを豊富に含んでいることはよく知られていますが、お米はタンパク質も約7%含んでいます。そのタンパク質のほとんどは種子貯蔵タンパク質で、タンパク顆粒に蓄えられます。タンパク顆粒は種子の外側に豊富で、その一部は、精米の過程で除かれてしまいます。玄米の栄養価が白米よりも高い理由の一つは、玄米がタンパク顆粒を豊富に含んでいるためです。

近年になって、生きたままの細胞の内部構造を、容易に直接観察できるようになりました。それを可能にしたのは、緑色蛍光タンパク質(GFP)と共焦点レーザー顕微鏡との組み合わせの技術です。GFPの発する蛍光を利用すると、お米の細胞内部の様子が詳細に観察できます。



研究の流れとしては、**胚乳細胞でのタンパク顆粒PB-I(赤)とPB-II(緑)の分布** まず、種子貯蔵タンパク質のグロブリンの一部(N末端領域)とGFPとの融合タンパク質を設計し、胚乳で高発現が期待できるプロモーターと連結します。次に、この遺伝子を含むDNA断片をイネのカルスに導入して、植物体を再分化させます。その植物の未熟種子の切片を、ロダミン(蛍光色素の一つ)で染色します。最後に、GFP(緑)とロダミン(赤)の細胞内での蛍光分布を、共焦点レーザー顕微鏡で観察・記録します。

中央の写真は、細胞の幅が約50ミクロンの胚

糊粉細胞の様子です。タンパク顆粒(PB-II)は、GFP融合タンパク質の発する緑の蛍光によって、ドーナツ状に見えています。タンパク顆粒の中心部が黒く見える理由は、お米の主要な貯蔵タンパク質であるグルテリンが、結晶性の構造体(クリスタロイド)を、そこで形成するためです。一方、ロダミンで赤く染まった多数の球状の顆粒は、全く別のタンパク顆粒(PB-I)です。このタンパク顆粒は、穀類特有の種子貯蔵タンパク質のプロラミンを含みます。

GFPの蛍光によって、お米のPB-IIを可視化した報告は、これまで前例がありませんでした。また、グロブリンの中心部領域は、GFPを(PB-IIではなく)PB-Iに、きわめて効率的に輸送することも判明しました。

お米の貯蔵タンパク質の輸送とタンパク顆粒形成の、分子メカニズムの詳細は明らかではありません。その解明に向けては、本研究で確立したお米のタンパク顆粒の可視化技術と、豊富なゲノム情報とを活用して、体系的に研究を進めていく必要があります。またその研究成果を応用することで、有用タンパク質を種子で高発現する、形質転換イネの作出が容易になると期待されます。

ことばの解説

タンパク顆粒：種子(お米、豆等)や塊茎(ジャガイモ)等の貯蔵組織で発達する細胞内小器官(オルガネラ)の一つです。その内部に主に貯蔵タンパク質を蓄積します。貯蔵されたタンパク質は、発芽時に養分として使われます。

タンパク質の輸送：種子貯蔵タンパク質は、小胞体上のリボソームで翻訳され、一旦、小胞体の内腔に入ります。その後、それぞれのタンパク質がもっている情報に従って、液胞を起源とするタンパク顆粒(PB-II)、または小胞体から直接発達するタンパク顆粒(PB-I)に輸送されます。

共焦点レーザー顕微鏡：従来の蛍光顕微鏡と異なり、焦点(ピント)のあった観察面の上下(ピントがずれている部位)からの蛍光を遮断できるため、観察面での蛍光部位を、より詳細に観察することができます。

ひとこと

食用ワクチンや機能性タンパク質等をお米で高発現させるための、新しい技術の開発をめざしています。



新生物資源創出研究グループ遺伝子操作研究チーム主任研究官：川越 靖

特集 イネゲノム研究の展開

イネゲノム塩基配列、重要部分の解読終了を宣言

イネの遺伝情報はDNAを構成する4種類の塩基、A、G、C、Tの配列の中に秘められています。イネの全ゲノムDNAは4億個の塩基から成り立っていますので、これらの配列を決めればイネの全遺伝情報の基盤を入手することができます。イネはみなさんがよくご存知のように、アジア・アフリカ・南米を中心に世界の人口の半数が主食として利用している、何物にも代え難い食料です。近い将来予想されている人口増加と食料不足を解決するために、世界中の植物研究者、特に穀類ゲノム研究者が協力して、イネの一層の改良につとめなくてはなりません。その第一歩として、1997年に国際イネゲノム塩基配列解読プロジェクト(IRGSP)が組織され、わが国はその議長国として1998年の第1回会議以来、ずっと中心的役割を担ってきました。IRGSPでは、イネ品種「日本晴」ゲノム塩基配列を99.99%の精度で解読し、その成果を即時公開することを合意事項として国や地域に参加を呼びかけました。当初はわが国も含めて、2007年に全塩基配列を解読する計画でしたが、イネを中心とする穀類ゲノム研究の世界的に急速な進展は、いくつかの民間企業の解読競争への参入をまねき、IRGSPには解読精度を下げてもいいから早期に完成すべきではないか、といった要望も寄せられるようになりました。しかし、IRGSPは「日本晴」の高精度塩基配列が、今後多様なイネ品種やイネ科穀類の基礎および応用研究に利用される際にならざる必要なることを説き、わが国の農林水産省をはじめ米国やフランス政府等も高精度解読をできる限り短期間で達成す



イネゲノム塩基配列が解読されたことによる、これからの遺伝子機能研究例を示した図。遺伝子の塩基配列の違いを迅速にさぐりあてることで表現形質との対応を知り、また遺伝子の多様性の研究からさらに優良な栽培イネを作出できます。

るように一層の財政支援をしてくれました。また、民間企業も彼らの得たデータの一部をIRGSPに無償で提供してくれました。このねらいについては、いろいろ憶測もあるでしょうが、IRGSPが国際的に協力して成果を挙げている事実と、イネという基本食料生産植物が対象であることから、たとえ民間企業とはいえ、利益追求の考え方のみではなく社会的貢献の必要性を考慮された結果だと思えます。実際にこの協力はIRGSPの計画の早期達成にたいへん役立ちました。最終的には10の国と地域がイネ12本の染色体のいずれかの領域の配列解読に実績を残し、2002年12月18日に、世界に向けてイネゲノムの重要領域の高精度塩基配列解読終了を宣言できました。今回のわれわれの努力に対する小泉総理大臣の力強い支持のことば



イネゲノム塩基配列解読記念式典にて

は、同時に式典を開催した米国においても評判になりました。イネの4億塩基対のうち、今回解読されたのは特に遺伝子が多く存在すると考えられる3.7億塩基対です。この中に約62,000個の遺伝子が予測されました。今回解読されずに残った部分はセントロメアとよばれる、細胞分裂の際に染色体が複製され新しい2個の細胞のそれぞれに正しく分配されるための役割をしている領域や、テロメアとよばれる染色体の複製に関わっている末端領域、あるいは繰り返し配列に富んでいたり、塩基配列解読に用いる化学反応が進み難い領域です。このような領域の塩基配列中にも遺伝子が存在し、またイネの遺伝現象に何らかの役割を担っているはずで、今後はさらに解読研究を継続し、今回配列がきちんと得られなかった領域についても解読を進める予定です。幸いなことにIRGSP参加各国もこれまでと同様に共同して、完全解読を

めざすことで合意しています。IRGSPではできる限り早期に完全解読を終えるように、これからさらに技術協力を図っていく計画です。



IRGSP参加グループの研究責任者たち。これら全グループで総勢250人程度の研究者や技術員がイネ塩基配列解読にたずさわっています。

ゲノム研究グループ長：佐々木卓治

イネゲノム研究を土台にIRRIとの研究協力を開始

当研究所とフィリピンにあるIRRI(国際イネ研究所)が研究協力を行うことで合意し、包括的な合意書の署名が平成14年12月19日に農林水産省農林水産技術会議事務局で行われました。IRRIは、イネの品種改良により開発途上国の食糧事情を大幅に改善したいいわゆる「緑の革命」の拠点となったことで知られています。合意の内容は、当研究所とIRRIがゲノム研究の成果を利用してイネの農業上の重要な形質、特にストレス耐性に関与する遺伝子を発見すること、農業研究での国際協調および開発途上国の発展に貢献する人材の育成に協力すること等です。この合意の背景には、国際コンソーシアムのイネゲノム塩基配列の重要部分の解読完了により、イネの遺伝子機能解明やその利用研究において企業等も参入した国際競争の激化が予想されるという状況があります。そのような中、世界の公的な研究機関での研究開発は、今まで以上に重要な意味をもってくるのです。

当研究所とIRRIが研究協力を行うことで、研究者の交流や相互のデータベースへのアクセスが可能になります。それにより、IRRIはこれまで

進めていたインディカ米の育種研究の加速化を期待しています。一方、当研究所はIRRIが収集してきたイネ野生種やイネの近縁種等の遺伝資源を活用し、ジャポニカ米の遺伝子機能解明や品種改良に向けた研究が加速されることをめざしています。



合意書に署名するIRRIのカントレル所長(左)と岩淵理事(右)

企画調整部イネゲノム研究推進事務局

会議報告

第5回バイオ胎盤シンポジウム「胎盤：その機能と組織工学的再構築」

このシンポジウムは、胎盤機能を生体外で解析するシステムを構築するための研究会である胎盤オルガノイド研究会(今年度事務局：当研究所生殖再生研究チーム)が主催し、農業生物資源研究所、東京薬科大学の共催、生研機構の後援で、10月27日、28日、国立オリンピック記念青少年総合センター国際会議場において開催されました。参加者は、約80名、国外研究者を含む13題のシンポジウム講演があり、胎盤を組織工学的に構築する課題への興味はもちろん、ミズリー大学マイ



手前向かって左から、ルイス・サラマンセン氏、マイケル・ロバーツ氏、2段目向かって左から3番目に島崎俊一氏、3段目向かって右から2番目に加藤幸夫氏。

ケル・ロバーツ博士の着床に関する遺伝子の発現制御、プリンスヘンリー医学研究所ルイス・サラマンセン博士の着床に関わる新規プロテアーゼ、東工大石野史敏博士のエピジェネティクス、インプリンティング機構と胎盤形成、カリフォルニア大学シマザキ博士のBMPの細胞分化と機能制御についての新知見等が参加者の興味をひきました。また、22題の一般講演の多くは、英語での発表で、外国人研究者との活発な意見交換ができ、若い研究者には有意義でした。今年度は、薬学や基礎生物学領域の研究者が加わり、環境化学物質、代替実験手法へのバイオ胎盤の応用等これまでと異なる視点からの意見交換ができ、本シンポジウムの今後の展開をうかがわせる会となりました。



発生分化研究グループ生殖再生研究チーム長：
橋爪一善

生物研/COE 国際シンポジウム「植物代謝：分子メカニズムと改変」

平成14年11月19～20日に、標記国際シンポジウムがつくば国際会議場で参加者160名をむかえて開催されました。本シンポジウムでは、植物代謝の分子機構と遺伝子組換えによる植物の代謝改変について、世界をリードする国内外の研究者(外国人8名、日本人11名)による最新研究成果に関する講演を行うとともに今後の研究戦略等について討論を行いました。植物の代謝経路、特に炭素と窒素の同化を含む一次代謝経路は複雑に相互作用をおよぼしあっているため、病虫害耐性や薬剤耐性の付与にくらべると、遺伝子組換えによる改変は難しいと考えられていました。しかし今回のシンポジウムで、代謝と代謝産物の転流の分子機構をきちんと理解することによって、目的通りの代謝改変が可能であることが示されました。

ぎっしりつまったスケジュールでしたが、活発な討論が展開され、またシンポジウムのあとの意見交換もさかんで、有意義なシンポジウムでした。

生理機能研究グループ光合成研究チーム長：
徳富光恵)



会議報告

国際シンポジウム「ジベレリン・ブラシノステロイド情報伝達の分子機構」

平成14年11月21日と22日の両日にわたり、つくば国際会議場(つくばエポカル)において国際シンポジウム「ジベレリン・ブラシノステロイド情報伝達の分子機構」が、国内外から190名の研究者をむかえて開催されました。植物ホルモンであるジベレリンやブラシノステロイドは、植物の茎葉の伸長生長や種子形成および根の生長制御に関与していることから、その分子機構の解明は地上部の草型や根の伸長制御につながるものと注目されています。本シンポジウムでは、モデル植物としてシロイヌナズナやイネの突然変異体を用いた研究によるその原因遺伝子の単離にとどまらず、その発現機構について遺伝子ネットワーク解析も含めて詳細に発表されました。さらに、ゲノム塩基配列情報を利用し、ゲノム機能解明技術を取り入れ、ジベレリン・ブラシノステロイド伝達機構を総括的に解析した新しい知見も報告されました。招待講演は16演題で、第一線で活躍している研究者の最新の研究報告に質疑応答がつきず、さらに公募ポスター32演題についても同様に若手研究者による活発な意見交換が行われました。



本研究分野の重要性を感じるとともに、理想的な草型をもつ植物の出現も近い将来に実現する可能性を強く感じました。

分子遺伝研究グループ遺伝子応答研究チーム長：
小松節子

ミレニアム植物科学研究プロジェクト研究成果報告会(2002年) 生物研 COE シンポジウム

平成14年12月2、3日の両日、新宿の安田生命ホールで約250名の参加者をむかえ、標記研究成果報告会とCOE国際シンポジウムがあわせて開催されました。

ミレニアム研究成果報告会は、ミレニアムプロジェクトの一翼をになっている、奈良先端科学技術大学院大学(JSPS植物遺伝子プロジェクト)、理研植物科学研究センター(植物ゲノム解析プロジェクト)および農業生物資源研究所(イネゲノムプ



ロジェクト)が、植物科学に関する研究成果を報告しあい情報交換の場とするために、毎年合同で開催しているものです。

本報告会では、各プロジェクトの概要と主要成果が紹介され、イネゲノムプロジェクトからも「イネゲノム全塩基配列：phase(フェーズ)2での解読終了(佐々木卓治ゲノム研究グループ長)」等の主要成果が6課題報告されました。各プロジェクトにおいて世界的にみて非常にレベルの高い研究成果がつぎつぎと得られており、総合討論では、連携をより強化して日本の植物科学研究を一層発展させていく必要性が強調されました。

COEシンポジウムでは、外国から著名な研究者3名をまねき、「植物ポストゲノム研究に向けて」と題して、ポストゲノム研究の現状と将来展望について活発な議論が行われました。シロイヌナズナに続きイネゲノム重要部分の塩基配列解読が終了し、今後、遺伝子機能解明等、植物科学研究の飛躍的發展が期待されます。

企画調整部企画室主任研究官：渡邊紳一郎

イベント報告

つくば科学フェスティバル2002

今回で7回目となる「つくば科学フェスティバル2002」が、平成14年10月12日(土)、13日(日)の両日、つくばカピオにおいて、約50機関・団体の参加により開催されました。

当研究所は、「小さな生き物の大きな役割」をテーマとした昆虫コーナーおよび「バイオテクノロジーにトライしよう」をテーマとした実験コーナーを出展しました。

昆虫コーナーでは、新たな産業利用に向けた昆虫の機能利用について、実物とパネルで紹介しました。来場者はヤマトヒメミズやケナガカブリダニ等を顕微鏡等で興味深く観察したり、担当者の説明に聞き入ったりしていました。また、「昆虫相談コーナー」も設け、いろいろな質問等に対応しました。

実験コーナーでは、遺伝子組換え技術について、組換え作物の開発技術や成果を実物とパネルで紹介しました。プロッコリーからDNAを抽出する実験では、興味を示す子どもが多く人気があり、

抽出したDNAのプレゼントも好評でした。

来場された方々は、科学技術の楽しさ、大切さを理解し、科学に親しむことができたのではとの感想をもちながら、フェスティバルは好評のうちに終わりました。



企画調整部広報普及課

第13回放射線育種場一般公開

平成14年度の放射線育種場の一般公開は10月24日(木)に開催されました。おだやかな天候にめぐまれ、127名の見学者の方々が訪れました。放射線施設ではガンマーフィールド、ガンマーグリーンハウス、ガンマールーム等の放射線安全管理と利用方法を、また、展示室においてはキク、バラ、イネ、ナシ、リンゴ、チャ、クワ等の放射線育種の成果をパネルと実物および培養物で紹介し、見学者は研究者の説明に熱心に耳をかたむけていました。イベントではバラの新しい変異系統

の品評会を催し、さらに、ガンマークイズ、スタンブラリーの正解者には放射線育種場特製の記念絵ハガキを、見学者全員にはミニバラをプレゼントしました。

放射線育種は数々の突然変異品種を生み出し、役に立てられており、私たちの生活を豊かにする、最も有効な原子力の平和利用の一つであることが理解されたとの思いを強くもつ中、一般公開は盛況のうちに終了しました。

企画調整部業務第3科長：川勝正夫



【特許権等取得一覧】

(14. 1. 1 ~ 14. 12. 31)

区分	発明の名称	登録番号	登録日	発明者	備考
国内特許	抗菌ペプチド及びこれを有効成分とする抗菌剤	第3,273,314号	14. 2. 1	山川稔・石橋純・坂中寿子	
"	抗菌性繭糸の製造法	第3,289,144号	14. 3.22	中島健一・高林千幸・田村泰盛	
"	昆虫類の行動を抑制して行う飼育法	第3,321,605号	14. 6.28	立石剣	
"	細胞死抑制遺伝子が導入されたストレス抵抗性植物およびその作出方法	第3,331,367号	14. 7.26	大橋祐子・光原一朗 カマル A. マリク	
"	ウイルス等の接種液の被接種体への接種方法	第3,333,872号	14. 8. 2	早坂昭二・古田要二	
"	イネ白葉枯病抵抗性遺伝子 X a - 1 および X a - 1 蛋白質	第3,336,350号	14. 8. 9	片寄裕一・土岐精一 倉田のり・吉村智美 王子軒・山内歌子 河野いずみ	(社)農林水産先端技術産業振興センターと共有
"	昆虫外皮切開装置及び昆虫外皮切開方法	第3,336,386号	14. 8. 9	小林亨・古田要二	
"	新規大容量バイナリーシャトルベクター	第3,350,753号	14. 9.20	川崎信二	科学技術振興事業団と共有
"	酒類の製造方法	第3,357,478号	14.10. 4	西尾剛・飯田修一 平井信行・高山卓美 鳥山國士・粉川聡	宝ホールディングス(株)及び全国農業協同組合連合会と共有
"	ペチュニアの転写因子PetSPL 2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法	第3,357,907号	14.10.11	高辻博志・中川仁	
"	シグナル配列を用いた遺伝子のクローニング方法	第3,357,915号	14.10.11	門脇光一	
"	結晶性絹超微粉末の製造方法	第3,362,778号	14.10.25	坪内紘三	一部本人が所有
"	キチンビーズ、キトサンビーズ、これらビーズの製造方法及びこれらビーズからなる担体並びに微孢子虫胞子の製造法	第3,368,323号	14.11.15	塚田益裕・白田昭 早坂昭二	
"	セリシンを大量に生産する蚕品種	第3,374,177号	14.11.29	山本俊雄・間瀬啓介 宮島たか子・原和二郎	
外国特許	キチンビーズ・キトサンビーズ・これらビーズの製造方法及びこれらビーズからなる担体並びに微孢子虫胞子の製造法 (韓国)	第0321665号 (3368323)	14. 1.10	塚田益裕・白田昭 早坂昭二	
"	絹フィブロイン微粉末の製造方法 (中国)	第ZL96,190,24 5.0号 (2615440)	14. 2. 6	坪内紘三	
"	イネのいもち病抵抗遺伝子の核酸マーカーと、このマーカーによって得られるイネいもち病抵抗性遺伝子 (中国)	第80705号 (特開平07-163 371)	14. 2.13	桂直樹・川崎信二 宮本勝・佐藤征弥 安東郁男	科学技術振興事業団と共有
"	創傷被覆材 (韓国)	第334486号 (2997758)	14. 4.16	坪内紘三	
"	創傷被覆材 (タイ)	第12823号 (2997758)	14. 5.23	坪内紘三	
"	キレート剤を含むヘリコバクターピロリ菌用抗菌剤 (アメリカ)	第6429225号 (特開2002- 154957)	14. 8. 6	永井利郎・老田茂	(独)農業技術研究機構と共有
"	結晶性絹超微粉末の製造方法 (アメリカ)	第6427933号 (3362778)	14. 8. 6	坪内紘三	

区分	発明の名称	登録番号	登録日	発明者	備考
外国特許	サテライト配列の単離方法 (オーストラリア)	第746,954号 (特開2000-60559)	14. 8.22	高橋秀彰・関野正志	
"	細胞死抑制遺伝子が導入されたストレス抵抗性植物およびその作出方法 (カナダ)	第2231738号 (3331367)	14. 8.27	大橋祐子・光原一郎 カマル A. マリク	
"	表皮細胞増殖活性化素材 (アメリカ)	第6440740号 (3094125)	14. 8.27	坪内紘三・山田弘生 高須陽子	
"	薬と花粉で発現するプロモーター配列 (オーストラリア)	第747939号 (国内で出願中)	14.10. 3	肥後健一・岩本政雄	
"	ペチュニアの転写因子 PetSPL2 の遺伝子の導入によって花序の節間を短縮させる方法 (韓国)	第360305号 (3357907)	14.10.28	高辻博志・中川仁	
"	抗菌ペプチド及びこれを有効成分とする抗菌剤 (アメリカ)	第6476189号 (3273314)	14.11. 5	山川稔・石橋純 坂中寿子	
"	創傷被覆材 (中国)	第ZL97190147.3号 (2997758)	14.11.20	坪内紘三	
"	青枯病菌由来の挿入配列因子 (アメリカ)	第6492510号 (特開2002-78491)	14.12.10	長谷部亮・土屋健一 堀田光生	
"	植物を矮性化させる方法 (アメリカ)	第6501007号 (3051874)	14.12.31	矢野昌裕・松本隆 佐々木卓治・呉健忠 山本公子・芦苅基行 吉村淳	(社)農林水産先端技術産業振興センターと共有

【品種及び命名登録一覧】

区分	農林水産植物の種類及び名称	登録番号	登録日	育成者	備考
品種登録	桑(せんしん)	第10056号	14. 3.25	岩田益・市橋隆壽・水本文洋 樋田仁蔵・山本賢・内田満 町井博明・小山朗夫 山之内宏昭・長沼計作	
"	稲(エルジーシー1)	第10469号	14. 9. 4	西村実・草場信・宮原研三 西尾剛・飯田修一・矢頭治 天野悦夫・井辺時雄・坂井真 堀未登	
"	えにしだ(メイヒロ)	第10948号	14.12.16	永富成紀・勝俣和子・野尻宙平	明治製菓(株)と共有
"	えにしだ(メイサムソン)	第10949号	14.12.16	永富成紀・勝俣和子・野尻宙平	明治製菓(株)と共有
"	えにしだ(メイファニィ)	第10950号	14.12.16	永富成紀・勝俣和子・安西弘行	明治製菓(株)と共有
"	えにしだ(メイロード)	第10951号	14.12.16	永富成紀・勝俣和子・安西弘行	明治製菓(株)と共有
命名登録	水稻(LGCソフト)	水稻農林381号	14. 9. 3	西尾剛・飯田修一・春原嘉弘 前田英郎・松下景・根本博 石井卓朗・吉田泰二・中川宣興 坂井真	(独)農業技術研究機構と共有

* 「登録番号」欄の下段は、国内の公開または登録番号などです。



農業生物資源研究所ニュース No.8

平成15年3月1日

編集・発行 独立行政法人農業生物資源研究所

National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS)

事務局 企画調整部広報普及課 TEL029-838-7004

〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2

<http://www.nias.affrc.go.jp/>