

農業生物資源研究所 ニュース

No. **19**

Contents

研究トピックス	2
<ul style="list-style-type: none"> • カイコの早熟変態誘導 • 新規イネ開花遺伝子 <i>Ehd1</i> の単離と解析 • 改変シロアリセルラーゼの大腸菌による大量生産技術 • イネタンパク質の立体構造解析 • シルクフィブロインを用いた新規スポンジ構造体 • カイコの遺伝子収集 – カイコ遺伝子の80%を網羅するESTデータベースとマイクロアレイ作成 – 	
特集1	8
<ul style="list-style-type: none"> • 遺伝子組換え作物（草型改変イネ、花粉症緩和イネ）の試験栽培 	
特集2	10
<ul style="list-style-type: none"> • 農林水産省委託研究プロジェクト「21世紀最大の未利用資源活用のための『昆虫・テクノロジー』研究プロジェクト」成果発表会 	
在外研究員報告	12
研究員短期集合研修	13
イベント報告	14



遺伝子組換え花粉症緩和米収穫風景
 (平成17年9月14日) (掲載記事は8頁)



JHエステラーゼの過剰発現による早熟変態蛹
 (掲載記事は2頁)

はじめに

昆虫の変態はその不思議さから、昔から人々の注目をひき、多くの研究者がその謎の解明に取り組んできました。今日では昆虫の脱皮および変態はホルモンの作用によることが知られています。カイコでは脳から脳ホルモン、脳の後方に存在するアラタ体から幼若ホルモン、前胸腺から脱皮ホルモン、食道下神経節から休眠ホルモンが分泌されます。幼若ホルモンは昆虫を幼虫態に留めておく作用、脱皮ホルモンは幼虫脱皮および変態を誘導します。休眠ホルモンは卵の休眠・非休眠を決定する作用、そして全体のホルモン調節を脳が行っているというのが今日の定説です。昆虫はホルモンの生理作用により脱皮を繰り返しながら、自然環境変化に適応して生命の維持を図っています。

幼若ホルモン分解酵素過剰発現カイコ

今回、カイコにおいて確立された遺伝子組換え技術を用い、幼若ホルモン分解に関わる酵素の一つ、幼若ホルモンエステラーゼを過剰に発現させる形質転換カイコの作出に成功しました。過剰発現には酵母の転写因子 Gal4/UAS の系を用いました。カイコは通常、4回脱皮して5齢幼虫になってから蛹になるのに対し、この形質転換カイコは2回脱皮した3齢幼虫から蛹化します（図1）。これまで、**早熟変態**はアラタ体の外科的摘出あるいは昆虫成育制御剤処理によらなければ誘導されませんでした。遺伝子組換えによって早熟変態が誘導できたのは、通常な



正常（5齢を経た蛹） 早熟変態（3齢から蛹化）

図1. JHエステラーゼの過剰発現による早熟変態蛹

ことばの解説

★**早熟変態** 本来の終齢より脱皮回数が少ない若齢から蛹へ変態することです。

ら5齢において幼若ホルモンエステラーゼが分泌されて幼若ホルモンが分解し蛹になるのに対し、形質転換カイコでは若齢から幼若ホルモンエステラーゼが過剰に発現されるために早い段階で幼若ホルモンが分解されたため蛹化してしまうと考えられました（図2）。

幼若ホルモン低濃度の実験昆虫

幼若ホルモンは昆虫生理のさまざまな場面で作用していますが、その受容体もまだ発見されていないなど、分子作用機構については未解明の部分が多く残されています。これまで、体液中の幼若ホルモン活性を人為的に上げることは可能でしたが、幼若ホルモン低濃度の環境を作るにはアラタ体除去が必要でした。アラタ体の摘出は熟練した技術を要するため、誰にでもできるという実験ではありませんでした。今回の研究で遺伝子工学的に幼若ホルモン濃度を極端に低下させることができたことにより、幼若ホルモンの作用機構研究が進展するものと期待されます。

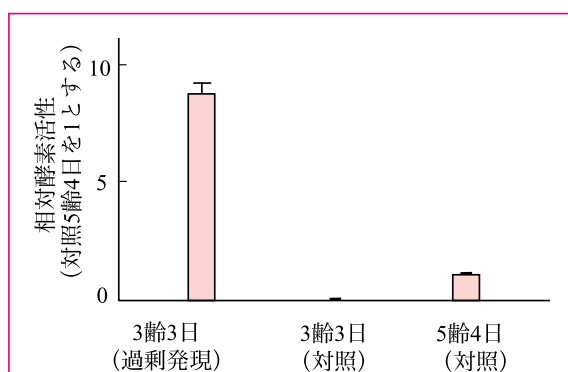
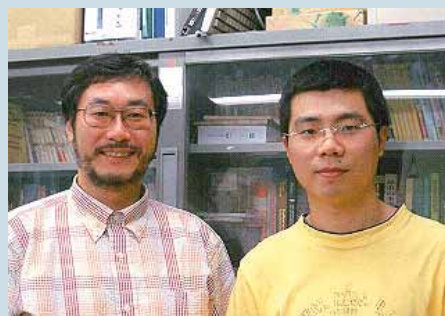


図2. JHエステラーゼ活性の比較

ひとこと

分子レベルでの幼若ホルモンの作用を明らかにしたいです。



発生分化研究グループ成長制御研究チーム：
（左より）塩月孝博、譚安江

新規イネ開花遺伝子Ehd1の単離と解析

はじめに

植物は、おもに日の長さを認識して花を咲かせる性質を持っています。これを光周性といいます。この性質をうまく使い、人は都合のいい時期に開花する系統を育種したり、電照ギクのように人工照明を使うことで開花を制御する手法を開発してきました。一口に、日の長さを認識するといっても、日の長さが短くなると花が咲く「短日植物」と、逆に日が長くなると咲く「長日植物」があります。これまで植物が日長を感知する分子機構はほとんどわかっていませんでしたが、私たちは短日植物であるイネを研究材料として、種を超えて進化的に保存されているいくつかの遺伝子が中心となって、開花を制御していること、その制御のキーとなるスイッチ遺伝子の機能が長日植物と逆転することで、イネが短日植物になっていることを明らかにしてきました。

新規開花遺伝子の単離と解析

今回、イネの開花時期を決めている新規な遺伝子を発見しました。この遺伝子 *Ehd1* (Early Heading

Date1) は短日条件下で開花を促進する作用をもち (図1)、長日植物のシロイヌナズナには存在しない遺伝子であることがわかりました (図2)。つまり、短日植物にしか存在しない経路を見つけることができたのです。このことから、イネは進化上保存された開花経路を変化させ、それと同時に、進化の過程でイネ独自の開花制御系をもつことで、短日植物となったことが明らかとなってきました。

また *Ehd1* 遺伝子は、植物ホルモンの刺激を伝えるタンパク質にアミノ酸の配列が似ていることから、日長の感知だけでなく、別の刺激に対する反応を担う可能性もあり、今後の解析が興味深いところです。

これからの展開

現在、*Ehd1* のさまざまな光条件による動きを調べています。これまで知られていないイネの開花を促進する環境条件が見つかる可能性が出てきています。現代版の「花咲いさん」も夢ではないかもしれません。

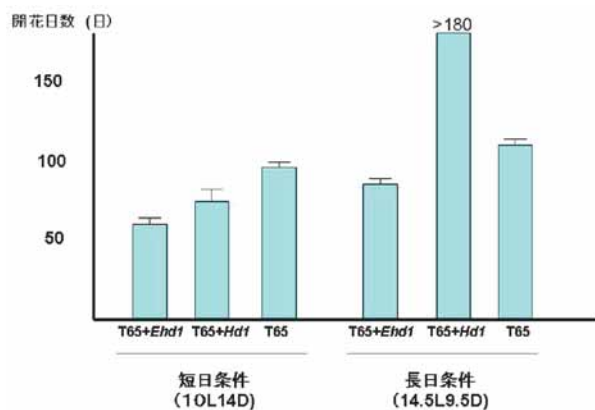
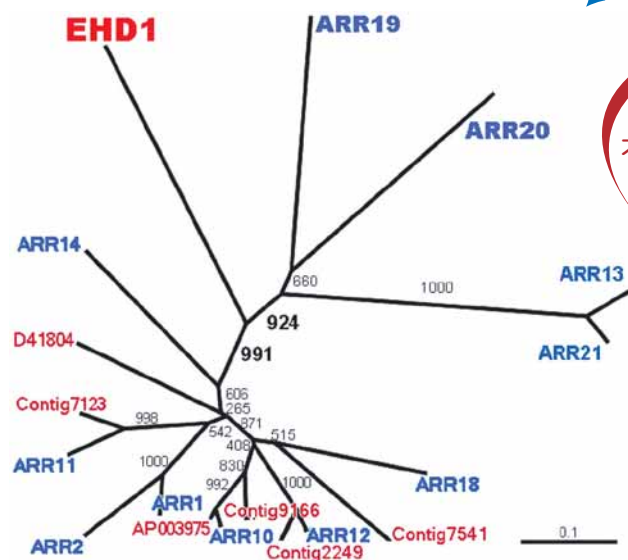


図1 イネの開花を決定する二つの遺伝子 *Hd1* と *Ehd1* (今回単離した遺伝子) を欠失している品種 T 65 (台中 65 号) に、それぞれの遺伝子を遺伝子組換えで戻して、短日条件 (SD) と長日条件 (LD) で栽培したときの出穂日への効果を調べました。

Ehd1 がなく、*Hd1* が機能的である系統は、非常に極端な日長認識を示すことがわかります。

図2 単離した *Ehd1* 遺伝子と似た構造をもつ遺伝子をイネとシロイヌナズナのゲノム情報から得て、分子系統樹を作成した。*Ehd1* が独自の進化をたどったことがわかる樹形となっています。

赤: イネの遺伝子, 青: シロイヌナズナの遺伝子



ひとこと

子供のころ、人間には時計なしには感じることでできない日の長さを植物が正確に感知できることを非常に不思議に思っていました。それが研究を始める動機となりました。これからの研究の発展がますます楽しみな今日この頃です。



分子遺伝研究グループ
遺伝子修飾研究チーム: 井澤毅

■シロアリセルラーゼ

下等シロアリ類では、腸内に棲息する共生原生動物が産生するセルラーゼによって、木材（セルロース）を分解し養分を吸収することが定説として長く受け入れられてきました。しかし私たちは、シロアリ自身も分子量約4万7千のセルラーゼを生産することを発見しました（Nature 394:330-331, 1998）通常、微生物によるセルロースの消化は複数の酵素によって行われますが、シロアリが産生するセルラーゼは一種類であり、これだけで結晶性セルロースを単独でセロビオースまで加水分解します。また、活性pHも4～10以上の広範囲にわたるなど応用面でも魅力的なセルロース分解酵素です。

■大腸菌による大量生産

昆虫由来酵素の研究・利用では微生物のように宿主昆虫による大量生産が難しいため、遺伝子を大腸菌等に組み込んで、クローン化したリコンビナント酵素を大量に調製する必要があります。しかしながら、これまでシロアリ類由来のセルラーゼは大腸

菌や酵母でほとんど発現せず、大量生産できませんでした。通常、このような現象は生物間のコドンの差異で起きますが、今回の場合は原因がタンパク質の構造にありました。そこで、4種類のシロアリセルラーゼ遺伝子（cDNA）のランダムなモザイク遺伝子をファミリーシャフリングで作成し、多数のモザイク遺伝子から大腸菌 JM109 で大量発現する改変シロアリセルラーゼ A18 を得ました（図）。A18 はヤマトシロアリセルラーゼに 26 アミノ酸の変異が組み入れられており、液体、固体の両培地にて培養可能です。改変セルラーゼ遺伝子を発現ベクター pQE30 に組み込み大腸菌に形質転換して発現した水溶性フラクション中のセルラーゼ活性を測定したところ、A18 は非改変の約 8 倍の活性を持つことがわかりました。さらに A18 で改変されていたアミノ酸をヤマトシロアリセルラーゼに加えていったところ、2 アミノ酸改変のみで大腸菌で大量生産が可能であること、酵素 1 ミリグラム当たりの活性も A18 と遜色がないことが明らかとなりました。

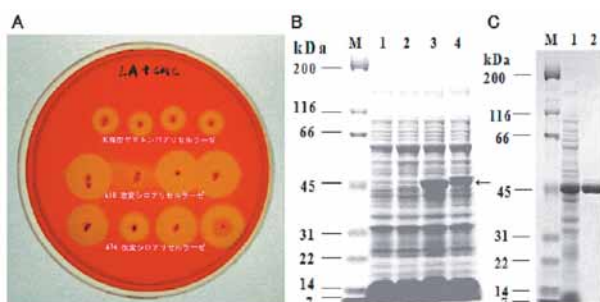


図 A シロアリセルラーゼが大腸菌 JM109 で大量発現する状況（プレート培地上の円の大きさが活性の大きさを示す）上段：非改変，中段：A18，下段：A74（大量発現に非適応の改変セルラーゼ）
B 液体培地中でのセルラーゼ生産の電気泳動像（←発現セルラーゼ）M：分子量マーカー，1：非改変大腸菌，2：天然型ヤマトシロアリセルラーゼ組込み大腸菌，3：A18 組込み大腸菌，4：A74 組込み大腸菌
C B 図と同じ M：分子量マーカー，1：A18 組込み大腸菌粗抽出物，2：A18 組込み大腸菌精製物

ことばの解説

- ★セルラーゼ セルロースのグルコシド結合を加水分解する酵素です。
- ★セロビオース グルコース 2 分子が β -1,4 結合でつながった二糖のことです。
- ★リコンビナント 遺伝子操作による DNA の組換え分子を生細胞に移行して組換え体をつくることです。リコンビナント製剤としてはインシュリンやインターフェロンなどがあります。
- ★コドン DNA 塩基配列において、3 個の塩基の組み合わせが 1 個のアミノ酸を指定する対応関係が存在します。この関係は遺伝暗号、遺伝コード等と呼ばれ、真核生物と原核生物で一部異なることが知られています。
- ★ファミリーシャフリング DNA シャフリング技術のひとつで、全体構造がほぼ同じで、アミノ酸配列が僅かに異なるタンパクをコードする複数遺伝子のランダムな相同組み替えを行い、キメラ遺伝子集団を作成する技術です。

ひとこと

本法はさまざまな昆虫由来酵素遺伝子に適用できると同時に、DNA シャフリング技術に関する特許への商業段階での抵触を回避する手段としても有効です。今後、本研究で得られた成果を多くの特色ある昆虫由来酵素に適用しその応用を図っていきたいと思います。



昆虫適応遺伝研究グループ昆虫共生媒介機構研究チーム：左から倪金鳳 (Jinfeng Ni)，渡辺裕文，竹原志実

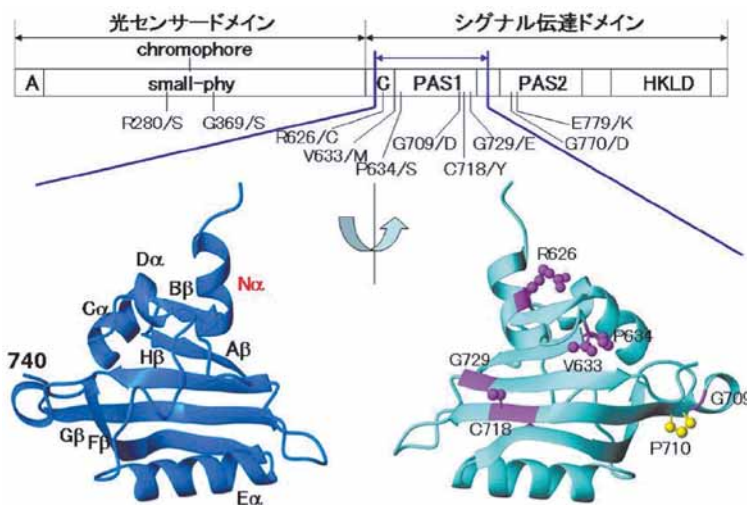
イネタンパク質の立体構造解析

なぜタンパク質の立体構造を解析する必要があるのか

イネの生物設計図であるゲノム塩基配列がすべて解読されました。これにより、育てやすい、病害虫に強い、低温・乾燥・強光・塩などの環境ストレスに耐性がある、収量が多い、美味しいなど、イネの品種改良において重要な性質に関するDNAの情報が突き止められようとしています。今後は、そのなかの有用形質に関連する遺伝子の位置の特定と、どのように機能を発現するのかを解明し、品種改良、新品種開発への応用などに役立てていくことが必要になります。生体の中では、遺伝子の塩基配列情報に基づいて多くのアミノ酸が結合したタンパク質が作られます。タンパク質はフォールディング（構造形成）することによって特異的な立体構造を形成し、機能を発現します。タンパク質のフォールディング構造を解明することは、タンパク質の構造と機能の関係を知る上で前提となる基本課題であり、イネ植物機能の総合的な理解と有用遺伝子の効率的な利用方策の開発にも繋がります。

イネタンパク質の立体構造解析から分子機能の解明へ

農業生物資源研究所では、8大学9グループと共同で平成14年から16年の3年間にわたりイネ構造プロテオミクス研究プロジェクトを実施しました。シグナル伝達や環境ストレス応答、病害抵抗、有用酵素など学術上または農業・産業上において重要な機能を担う134種のタンパク質およびタンパク質ドメインについて、X線結晶解析とNMR解析により14種のタンパク質のX線結晶構造と9種のタンパク質のNMR溶液構造を決定しました。決定した立体構造に基づいて、タンパク質がどのように機能を発現しているのか解析することができます。その1例を図に示します。フィトクロムは赤色光を感知する受容体タンパク質で、イネの開花や形態の形成に重要な光シグナル伝達系の入力調節を担っています。シグナル伝達機能を失ったフィトクロムAの変異体が報告されていますが、これらの変異体の多くではPAS1相当領域中の1つのアミノ酸が他のアミノ酸で置換されています。これらの変異の全ては図に示



す立体構造のβシートを核とする分子表面に位置している、この領域が下流のフィトクロム結合因子との相互作用に重要な役割を担うことが明らかにされました。

図 フィトクロムAのPAS1相当領域のNMR溶液構造とミスセンス変異の分布

ことばの解説

★**X線結晶解析** タンパク質結晶に強いX線を当てたときに得られる回折像を解析することによって、立体構造を決定することができます。低分子から生体高分子の広い範囲で立体構造決定に利用されています。

★**NMR解析** NMRとは医療の現場で使われている画像診断装置MRIの元になった物質探査方法で、磁場中に置いた物質に電子波を当てたときに起こる核磁気共鳴現象を解析することによって、分子の立体構造や運動の様子を明らかにすることができます。

ひとこと

タンパク質の立体構造を通して生命の神秘が見えてきます。「生体に学び、生体を超える」を motto に研究しています。



生体高分子研究グループ超分子機能研究チーム：山崎俊正

■シルクフィブロイン

カイコが吐く繭糸はフィブロインとセリシンという2種類のタンパク質からできています。繭糸表面にあるセリシンを精練という工程で除去したフィブロインが絹の繊維そのものであり、光沢のある美しい織物となります。フィブロインは繊維のみならず、粉末、膜、ゲル、水溶液などのようにさまざまな材料形態に加工することができます。この特徴を生かして、これまでに化粧品やヘアケア製品等に利用されています。しかし、スポンジ構造体に関しては、その利用が未開拓のままでした。その原因は、これまで簡便なプロセスで機械的強度をもったスポンジ構造体（シルクスポンジ）を形成させることが困難であったからです。

■スポンジ構造体の形成プロセス

私たちは、フィブロイン 100%のスポンジ構造体を製造する簡便なプロセスを見出しました。フィブロインの水溶液に、少量（1%程度）のエタノール等の水溶性有機溶媒を添加し、凍結・融解の処理をするのみで、機械的強度と良好な多孔質構造をもつスポンジ構造体が形成できます（写真1）。構造体形成には有機溶媒濃度や凍結温度、凍結時間が重要であることがわかりました。スポンジの**圧縮弾性率**

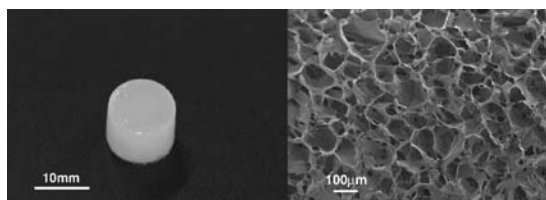


図1 スポンジの外観と内部の走査型電子顕微鏡写真

ことばの解説

★**圧縮弾性率 (MPa)** 材料を一定の面積で押し込んだときの弾性の程度を表します。材料の柔らかさや硬さの指標になります。

★**Silk I型、Silk II型** シルクフィブロインの結晶形態を表す言葉で、シルクがカイコ体内で繊維化前には不安定なSilk I型が主であり、吐糸され繊維化すると安定なSilk II型になるといわれています。

★**再生医療用材料** けがや病気で失った組織や臓器を、細胞を利用することにより再建することを目的とする再生医療において、目的の細胞の増殖・分化や組織構築を支えるために用いる材料を示します。

(MPa) (図2) や引っ張り強度、多孔質構造はフィブロイン濃度や添加する溶媒の種類や量によってコントロールできます。スポンジはオートクレーブ滅菌が可能であるため安全に使用できます。

構造体形成機構は現在研究中ですが、X線回折や赤外分光により、スポンジには**Silk I型**や**Silk II型**の結晶構造が存在し、フィブロインの2次構造のβ構造が増加していることがわかりました。これらの結果より、凍結過程における結晶生成とフィブロインと水との間の相分離が関与していると推察しています。

■今後の展望

作出したスポンジを利用する軟骨再生用材料開発の検討を進めています。これまでの結果では、シルクスポンジ内で軟骨細胞が良好に増殖し、軟骨組織が形成されることを確認しています。このような**再生医療用材料**をはじめ、シルクの未開拓分野への活用技術研究を進める予定です。

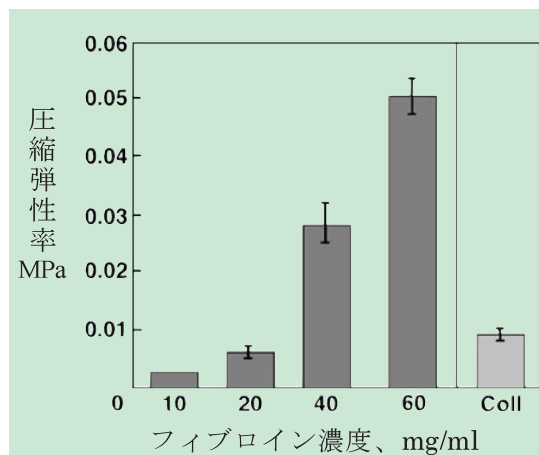


図2 スポンジのフィブロイン濃度による圧縮弾性率の変化

溶媒 : DMSO (ジメチルスルホキシド), 溶媒濃度 : 1 vol%
Coll: コラーゲンスポンジ

ひとこと

人にも環境にも優しいシルクで、社会に役立つ材料を作りたいと思っています。



昆虫新素材開発研究グループ生体機能模倣研究チーム：玉田靖

はじめに

カイコ (*Bombyx mori*) の遺伝子情報は、新品種の効率的育成や昆虫機能解明、有用物質生産の開発に役立てることができます。これをとおして蚕糸業の活性化と昆虫新産業創出に大きく貢献すると期待されます。またカイコは、農業害虫の多くが含まれる鱗翅目昆虫（蝶、蛾の類）の代表種であり、害虫防除の観点からもカイコ遺伝子情報の必要性が世界的に注目されています。そこでEST（発現配列標識情報）解析により、カイコ遺伝子の塩基配列情報を効率的に収集し、ESTデータベースの構築を行いました。さらに、カイコの6,000EST クロンを搭載したESTマイクロアレイを作成し、カイコの持つ全ての遺伝子機能を効率的、定量的に計測する有効な手段の開発を進めました。

カイコ発現遺伝子情報のデータベースとマイクロアレイ作成

カイコの遺伝子発現には組織や発生段階によって特異性があります。そのためさまざまな組織および

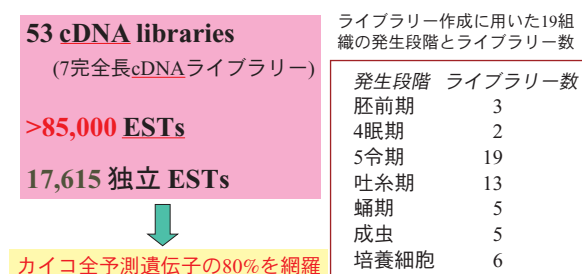


図1. カイコ EST データベース

それらの異なる発生段階から 53 種類の発現遺伝子 (cDNA) ライブラリーを作成し、各ライブラリーあたり 1,000 個以上の EST を決めました。現在までに 85,000 個の EST を決め、これらは 17,615 個の独立 EST にグループ化できました。カイコ遺伝子総数は約 2 万と推定されていますので、80% 以上の遺伝子が EST として得られたこととなります (図 1)。17,615 種類の EST の中から 6,000 個の独立 EST を選び、ガラス基板上に固定した EST マイクロアレイを作成しました。1 度に 6,000 個のカイコ遺伝子の発現挙動を定量的に調べることができる有効な研究手段を開発しました (図 2)。

成果の活用

EST 解析で得られたカイコ遺伝子情報は農業生物資源研究所のホームページ (<http://sgp.dna.affrc.go.jp/>) にて公開、提供しています。そして多くの研究者に利用されています。これにより昆虫新素材の開発や昆虫産業の創出につながるものと期待されます。

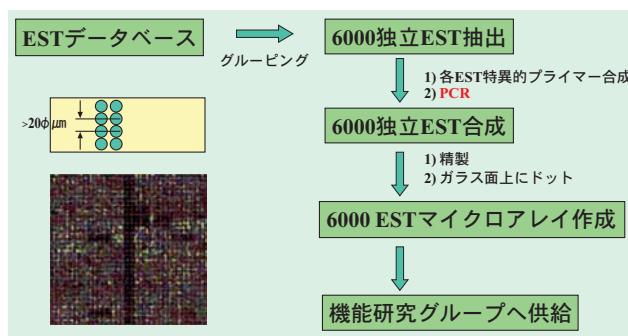


図2. 6,000 EST マイクロアレイ作成と公開

ことばの解説

★ EST (発現配列標識情報) 発現している遺伝子の一部分の塩基配列 (Expressed Sequence Tag の略) で、これで遺伝子を識別することができます。

★ EST マイクロアレイ EST チップとも呼ばれ、スライドガラス面上に数千から数万の EST を高密度に配置 (アレイ、array) したものです。一度に多数の遺伝子発現を観察することができ、機能解析研究ではきわめて効率的なツールとなっています。

ひとこと

世界の昆虫遺伝子情報の発信源となる昆虫遺伝子情報解析センターになることを期待しています。



ゲノム研究グループ昆虫ゲノム研究チーム：(左から) 山本公子、三田和英、門野敬子

遺伝子組換え作物(草) の試験栽培 ～栽培

■ はじめに

農業生物資源研究所（以下、「研究所」とする。）では、基礎的研究で得られた知見をもとに、農業生産性の向上や健康増進に役立つ機能を持つ遺伝子組換え農作物などの研究を進めています。

多くの研究の中から、現在、野外試験栽培段階に進んだ遺伝子組換えイネとして、強風などで倒れにくいように草丈をやや低くした（半矮性）イネや太陽光を効率的に受けられるように葉を直立にした（直立葉）イネ（以下、半矮性イネと直立葉イネを「草型改変イネ」とする。写真1）と、今や国民の20%がかかっているとされ、「国民病」ともいえるスギ花粉症を緩和する機能を持ったイネ（以下、「花粉症緩和イネ」とする。）があります。平成17年に、草型改変イネと花粉症緩和イネを研究所内の実験圃（ほ）場において試験栽培を行いましたので、その経緯を紹介します。

1) 田植えを行うまで

遺伝子組換え実験は、カルタヘナ法*に従って行うことが定められています。特に、野外で試験栽培を行う場合（カルタヘナ法で「第1種使用等」といいます）、周辺の野生生物に悪影響が無いことを科学的に評価し、最終的に農林水産大臣と環境大臣から栽培認可を受けることが義務づけられています。また、実験段階の遺伝子組換え農作物の試験栽培では、研究所周辺で商業栽培されている非組換え農作物と交雑したり、遺伝子組換え農作物の種子が食品に混入しないように、農林水産省が策定した「第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」（以下、「栽培実験指針」とする。）に従って管理されます。

研究所では、遺伝子組換え農作物の野外試験栽培を行うにあたり、事前に関係する地方自治体（茨城県並びにつくば市）へ、試験栽培の概要と栽培実験指針に従ってどのような交雑防止措置を行うかなどを説明しました。また、周辺住民への情報提供のために、一般説明会の開催（4月23日に開催）や、研究所のホームページで、遺伝子組換え農作物の開発目的や試験栽培の概要や交雑防止措置等について説明しました。なお、一般説明会の開催について、新聞や研究所のホームページよりお知らせするとともに、研究所周囲の自治会（観音台、若葉、中山、南中妻地区）の各戸に

は、回覧で試験栽培の概要とともに説明会の開催をお知らせしました。このようにして開催した一般説明会には93名が参加されました。

2) 田植えから収穫まで

組換えイネの田植えは、一般市民やマスコミの方々に招いて、平成17年6月8日に行われました。まず各試験圃場において、実験担当者が試験栽培する組換えイネの開発目的や今回の試験栽培の概要について説明し、続いて実際の田植えを見学してもらうものでした。多数の参加者があり、組換えイネの試験栽培に対する関心の高さがうかがえました。一方、残念なことに組換え農作物の栽培に反対する方々が圃場に入り込むなどの反対行動が起こり、田植えなどの作業が妨害される場面がありました。最終的には、無事に作業は終了しましたが、今後このようなことの無いことを願っています。

それぞれの遺伝子組換えイネの生育状況や交雑防止措置、試験項目などについて、以下に紹介します。

①草型改変イネ

6月8日に田植えを行ったイネは順調に生育し、8月中旬に出穂して9月28日に収穫となり（写真1）、収穫日には記者発表を行いました。今回の栽培では、試験圃場の他の試験用イネから34m、一般農家の水田からは約400m離れています。また、開花時期には防風網を張ることで花粉飛散を防止するように努めました。栽培実験指針では、イネの花粉飛散距離は20m（今年は暫定的に26m）とされており、十分な隔離距離を確保しています。

今回の試験栽培では、様々な栽植密度や肥料条件において収量性がどのように変化するかを調べるのが主目的です。そのため形態調査（稈長、穂長、穂数、種子の大きさなど）や生育特性（出穂期、穂揃期、成熟期、稔実率など）とともに、収量性を調査します。



写真1 草型改良イネの草姿と収穫風景

左 図：左 非組換えイネ、中央及び右 半矮性イネ
中央 図：左 組換えイネの葉（直立葉）、右 非組換えイネの葉
右 図：収穫風景（平成17年9月28日）

型改変イネ、花粉症緩和イネ)

情報の提供、田植え、収穫まで～

②花粉症緩和イネ

花粉症緩和イネは遺伝子を導入した元の品種が北海道の栽培に適した品種「キタアケ」を用いているため、7月下旬に出穂し、9月14日に収穫となりました。花粉症緩和イネも所内の試験栽培用イネからも50m離れ、研究所外の最も近い水田から750m離れていることから十分な隔離距離が確保されています。さらに、開花時期には防風網を張るなど、草型改変イネと同様の花粉飛散防止策を講じています。

花粉症緩和イネの隔離圃場での試験栽培では、生物多様性への影響を調査しています。調査項目として、前出の形態調査や生育特性のほかに、花粉飛散性の比較（花粉症緩和イネと品種‘キタアケ’の花粉飛散性の比較）、カメムシなどの吸汁昆虫や土壌微生物相への影響などがあげられます。今年の試験栽培により約300Kgの玄米が収穫でき、食品としての安全性評価に用いる予定です。

研究所では、花粉症緩和イネの収穫日に記者発表を行うとともに、報道機関を対象とした見学会を開催しました。今回の記者発表や見学会は、遺伝子組換えイネの収穫後を広く知っていただく目的で行いましたが、今後、各試験結果の取りまとめをうけて、適当な時期に一般の方々を対象とした報告会を開催する予定です。



写真2 花粉症緩和イネの田植え（平成17年6月8日）と収穫風景（平成17年9月14日）



3) 今後の予定

昨年行われた隔離圃場試験によると、草型改変イネにおいて収量性向上の可能性が示されてきました。今年の野外試験栽培で収量性向上が確認できれば、本組換えイネに導入された遺伝子により収量性向上に役立つことが明らかとなります。今後はイネにおいて収量性向上の経済的必要性や遺伝子組換え農作物に対する社会の動向等を考慮して、実用化のための開発を検討する予定です。

花粉症緩和イネについては、生物多様性への影響調査の取りまとめを行うとともに、収穫された約300Kgの玄

米をカニクイザルに食べさせることにより、花粉症緩和イネの食品としての安全性評価を行います。この試験は、将来、このコメを人間が食べることを想定し、炊飯してパック詰めしたコメを温めて、カニクイザルに与えることを考えています。カニクイザルの試験などで安全性が確認できれば、人間への利用に向けて一歩進めることを考えています。

4) 最後に

農業生物資源研究所では、組換えイネの試験栽培だけでなく、遺伝子組換え技術の理解増進のために、世界的に広く栽培されている除草剤耐性ダイズ（写真3）や害虫抵抗性トウモロコシなどの展示栽培も行いました。2004年の世界的における遺伝子組換え農作物の栽培面積は8,100万haと日本の国土の2倍以上にもなり、栽培面積は急速に広がっています。それは遺伝子組換え農作物を栽培するメリットがあると判断されているからです。農業生物資源研究所では、遺伝子組換え技術を十分に利用し、優れた遺伝子組換え農作物等を開発するとともに、その安全性には万全を期して商品化することが使命であると考え、今後も研究開発を推進していきます。



写真3 除草剤耐性ダイズの展示圃場
左：無除草区（ダイズと雑草の見分けがつかなくなっています）
右：非選択性除草剤使用（ダイズだけが生き残り、雑草が枯れています）

用語解説

★カルタヘナ法：「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」の略称で使われています。本法律は、遺伝子組換え生物等から生物多様性を保全する目的で作られた国際条約「バイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」の国内における実施に必要な条項を定めたものであり、実験室や温室など、外界と隔離された施設で遺伝子組換え体を取り扱う「第2種使用等」と屋外で組換え体扱う「第1種使用等」に大別されます。

遺伝子組換え技術開発・情報センター長：田部 豊

21世紀最大の未利用 「昆虫・テクノロジー」

平成14年度に開始された「昆虫・テクノロジー」プロジェクトの成果発表会が、平成17年9月16日に東京のコンファランススクエアM+で、独立行政法人農業生物資源研究所の主催、(社)農林水産先端技術産業振興センターの後援で開催されました。

◆プログラム◆

1. カイコゲノム基盤情報の構築
2. マイクロアレイの利用：発現遺伝子探索からネットワーク解析へ
3. 創薬ターゲットとしてのホルモン関連分子
4. 新規害虫制御剤スクリーニング系の構築
5. ゲノム情報を利用したカイコ濃核病ウイルス抵抗性原因遺伝子の単離
6. 鱗翅目昆虫特異的遺伝子の探索と機能解明
7. 改変シロアリセルラーゼの大腸菌による大量生産技術
8. カイコフィブロインのスポンジ化とその利用技術開発
9. カイコ遺伝子組換えによる外来タンパク質発現技術の開発
10. 組換え体カイコによる機能性タンパク質生産技術の開発

この研究プロジェクトは、昆虫機能を解明して産業に結びつけることを目的としており、カイコのゲノムを解読する研究、その情報を利用して農薬開発を行うための研究、カイコの遺伝子組換え技術を利用してカイコにいろいろなタンパク質を作らせる研究、昆虫の機能を解明して利用する研究、カイコの繭糸のタンパク質成分であるフィブロインとセリシンをタンパク質素材として利用するための研究などが行われています。今回はその中からプログラムにある10のテーマを選んで研究成果の発表が行われました。ここではそのうちの5題について簡単に内容を紹介します。

「カイコゲノム基盤情報の構築」の講演は、カイコのゲノム情報がどのように利用できるかということをおもしろく説明したものです。カイコのゲノム情報解析の結果、全ゲノムの80%の塩基配列が決定されました。また、体の中で発現している遺伝子の

断片の配列を解読して、約17,000種類の配列(EST)を得ることができました。この数は推定されているカイコの全遺伝子の約80%に相当するものです。これらのカイコの遺伝子情報は、KAIKObaseと呼ばれるデータベースとして公開されています。

「マイクロアレイの利用：発現遺伝子探索からネットワーク解析へ」は、体の中で発現している遺伝子の断片を集めたESTライブラリーを利用してマイクロアレイを作り、体の中で遺伝子がどのように働いているかを明らかにしようというものです。マイクロアレイを使い、カイコに殺虫剤を作用させたときに発現が活発になったり抑えられたりする遺伝子を解析して作用機構を推定しようという研究と、昆虫の体の中に共生している微生物が昆虫の遺伝子の働きに与える影響は微生物の種類によって異なるという研究が紹介されました。このようなマイクロアレイのデータを積み重ねることによって、遺伝子の発現がどのような相互関係をもっているかというネットワークの解析に結びつけることが研究のねらいです。

カイコの吐く絹糸は繊維として利用されてきましたが、繭糸はほとんどがフィブロインとセリシンという2つのタンパク質からできているため、タンパク質素材として利用することができます。「カイコフィブロインのスポンジ化とその利用技術開発」の



カイコの遺伝子情報のページ
<http://sgp.dna.affrc.go.jp>

資源活用のための 研究 プロジェクト成果発表会



活発な質疑応答の様子

講演で、このフィブロインを今までとは全く異なる簡単な方法でスポンジに加工する技術が紹介されました。このスポンジは軟骨再生素材として利用の検討が進んでいますが、コラーゲン、ポリ乳酸などの素材と比較して滅菌が可能という長所があるだけでなく、良好な軟骨細胞の増殖が示されました。また遺伝子組換えカイコを利用してフィブロインに新しい機能の付与を試み、フィブロインスポンジの細胞接着能力の向上に成功したことが紹介されました。

カイコは繭を作るときに0.4g程度のタンパク質を糸として吐きます。このカイコのタンパク質を生産する能力を利用して、遺伝子組換えによって人の手では合成できないタンパク質の生産が可能になってきています。「カイコ遺伝子組換えによる外来タンパク質発現技術の開発」の講演では、カイコ卵への遺伝子の注入技術、組換え体を識別する眼色マーカーの開発、交配した次の世代のカイコで目的とするタンパク質が生産される系統の開発、フィブロインまたはセリシンとともにタンパク質を生産したときの事例などが紹介されました。

「組換え体カイコによる機能性タンパク質生産技術の開発」では、カイコの遺伝子組換え技術を実用化するための研究が東レ株式会社から紹介されました。東レ株式会社は現在ネコインターフェロンをカイコと組換え体ウイルスを利用して生産していますが、遺伝子組換えによって、カイコ1匹が生産する量の増加と生産物の精製の効率化によるコストの削減を目的に研究を進めていることが紹介されました。その中で、活性のあるタンパク質を得るための改良が必要であることと、生産量の増加が必要であることなどが紹介されました。

成果発表会は、民間企業28社49名、大学33名など合計で135名の参加があり、このプロジェクトの目指す昆虫利用産業への関心の高さをうかがうことができました。また、アンケートをお願いし、49名の回答を得ることができました。この結果をもとにして次の活動を企画していきたいと考えています。

成果発表会の講演内容をまとめた講演要旨集をご希望の方は、農業生物資源研究所企画調整部情報広報課（TEL：029-838-7004）までご連絡ください。



熱心に聴講する多数の参加者

◆アンケートの結果◆

- 講演内容について（プログラムの講番号。カッコ内は回答数）
 - ・おもしろかった講演 8(20)、2(17)
 - ・近い将来実用化が期待される内容を含む講演 10(17)、8(16)、9(15)
 - ・実用化の基礎として期待される内容を含む講演 9(13)、1(12)
 - ・使ってみたい情報・技術が含まれていた講演 2(16)、8(15)
- 講演全体を聞いて新産業創出を目指すプロジェクトとして（カッコ内は回答数）
 - 期待できる(32)、期待は小さい(5)、期待できない(0)、わからない(9)、その他(2)
- 情報発信について今後どのような活動を期待されますか（カッコ内は回答数）
 - 成果発表会(30)、テーマを絞ったセミナー(23)、昆虫製品展示も含めたワークショップ(21)、定期的に開催する研究会(13)、その他(2)

生体機能研究グループ：川崎建次郎

フィラデルフィア での研修



分子遺伝研究グループ
遺伝子応答研究室：
吉川 学

sRNA に関する研究

はじめに

私は2003年7月末から2年間、1年目は生物研の在外研究員制度、2年目は受け入れの研究室の予算をそれぞれ得て、アメリカ独立宣言の場として有名なフィラデルフィアにあるペンシルベニア大学にて在学研究を行いました。大学は、約250年前に創設され、創設者はアメリカの独立期に政治家・外交官として活躍し、さらに雷が電気であることを証明した科学者としてなど、幅広い分野で活躍したベンジャミン・フランクリンです。大学の学生や研究者・教員は国際色が豊かで、世界中から人が集まっています。私が所属していた Scott Poethig 教授の研究室のメンバーの出身国も多彩で、アメリカ、メキシコ、中国、韓国、日本でした。



trans-acting siRNA (ta-siRNA) の発見

ここ5,6年の間に急速に発展している研究分野の一つに small RNA (sRNA) があります。sRNA は、わずか20数個の塩基配列からなり、その塩基配列に相補的な遺伝子の発現調節を行います。最近、幅広く使われている実験方法の RNA 干渉もこの現象に基づいたものです。彼の地で私の担当した研究は、この sRNA に関する研究でした。植物研究の材料として広く使われているシロイヌナズナを使って、SGS3 及び RDR6 という

遺伝子が、新しいタイプの sRNA (trans-acting siRNA) の生成に関与することを明らかにしました。この ta-siRNA は、タンパク質をコードしている遺伝子と遺伝子の間のタンパク質を作らない領域から転写された RNA から作られます。

最後に

フィラデルフィアでの2年間の在外研究の機会を与えていただきました関係者の皆さまに感謝します。



フィラデルフィア中心部にある公園のクリスマスツリー

ひとこと

タンパク質が作られない領域から転写される RNA の機能解明は、これからの大きな研究テーマの1つです。

ことばの解説

★RNA干渉 スタンフォード大学の Fire 博士らは、2本鎖の RNA を線虫に導入すると、その2本鎖 RNA に相補的な RNA のみが効果的に抑制されることを発見し、この現象を RNA 干渉と名づけました。現在、RNA 干渉はたくさんの生物の研究に使われており、医療面でも、ガンやC型肝炎などに対する治療法として検討されています。

平成17年度 都道府県農林水産関係研究員短期集合研修

平成17年10月3日～7日 於：農業生物資源研究所



青森県
農林総合研究センター
畑作園芸試験場

北野 のぞみ

正味3日間という短い期間での研修でしたが、講師の方々をはじめ研究所のみなさんや一緒に受講した方々には大変お世話になりました。

普段は、畑で作物を育てながら、作物に被害を与える害虫類の発生量やその防除方法、作物の受けた被害状況について調査するといったフィールドワーク主体の仕事をしています。そのような私にとっては、今回の研修内容である最先端のバイオテクノロジーを用いた昆虫（カイコ）・病原菌等の遺伝子解析や、解読した遺伝子の機能解明という研究が、一見、普段の仕事とはかけ離れたものであるように思えました。しかし、遺伝子の機能を明らかにすることによって害虫に殺虫剤抵抗性が発達する機構の解明に役立ったり、形態で識別することが困難な微少な昆虫類についても、DNA マーカーを利用して識別できるようになりますし、また、遺伝子組換え技術を利用した害虫防除法や、昆虫の正常な発育に関わるホルモンを利用した害虫防除法など、現場に役立つ技術としての展望があるということで、非常に興味深く感じました。

今後は、この研修で得られた情報を、研修が縁で知り合えた各地の研究員の方々とともに病害虫防除や診断技術に活かせるよう努力していきます。

「昆虫機能研究の進展と病害虫管理等への利用」を受講して

昆虫機能、ゲノム分野の研究で、今、何が起きているのかを知りたいと思い、今回の短期集合研修に参加しました。

講義内容が多岐にわたり、また、最先端技術を含めて説明いただけただので、幅広く知識を深めることができました。しかし、難解な部分も多く、勉強不足を感じましたので、自分の研究に関連のある部分を勉強し直そうと思います。

植物保護の現場ですぐにも応用可能なもの、数年先には応用できそうな研究も多いことがわかりました。今後は、生物研のご指導を受けながら、現場で技術を活用していきたいと思います。また、今後の研究の進展に、大いに期待しています。

比較的小人数の受講者でしたので、いい雰囲気での研修が進められ、規模の大きい研修とは違って、後に残るものが多く、効果が上がったように思います。

最後になりましたが、すばらしい研修を開催して下さった大浦研究交流科長はじめスタッフの皆様、講師の先生方に厚くお礼申し上げます。



岐阜県
農業技術研究所
環境部

市橋 秀幸



NIAS／COE 国際シンポジウム

「昆虫機能利用研究の現状」



標記のシンポジウムが、平成 17 年 10 月 4 日（火）、5 日（水）の両日、つくば国際会議場中ホールで開催されました。参加者は国内外合わせて 97 名でした。今回のシンポジウムは、当研究所が蚕糸・昆虫農業技術研究所から引継ぎ、10 年間にわたり推進してきた COE「昆虫機能利用研究」プロジェクトとして最後のものでした。そのため、「昆虫機能利用研究の現状」と題して、プロジェクトのサブリーダーが COE 期間中の成果について発表するとともに、関連分野の著名な研究者の講演を組み込むことにしました。

サブテーマ I「生合成機構」では、昆虫における免疫系と抗菌性ペプチド研究、トリパノソーマの感染経路など医薬学分野の話題、さらには、テントウムシの羽型の遺伝解析・天敵利用、非エクジステロイド系エクダイソンアゴニスト、エクダイソンカスケードにおける転写因子、カイコ神経ペプチドに関する研究発表が行われました。また、サブテーマ II「改変・模倣」では

絹蛋白質科学における、応用のための工学研究、アミノ酸配列と水和性ゲルへの応用、生分解性・金属吸着性という絹の材料科学研究についての講演がありました。さらに、サブテーマ III「大量生産」では、鱗翅目昆虫を寄主とするバキュロウイルスの遺伝子複製機構、バキュロウイルス遺伝子の寄主におけるホモログの機能解析、昆虫の培養細胞の確立と遺伝子発現系に関する最新研究の発表が行われました。いずれの分野においても活発に質疑応答と討論が行われました。

文部科学省科学技術振興調整費によるシンポジウム開催の支援は、これで打ち切りになりますが、COE 研究プロジェクトで市民権を得た「昆虫機能利用研究」という分野の国際シンポジウムが、今後も定期的に開催されることを期待します。

COE 総括責任者 昆虫新素材研究グループ：竹田敏
オーガナイザー 発生分化研究グループ：塩月孝博



講演者と関係者



農業生物資源研究所ニュース No.19

平成 17 年 12 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 企画調整部情報広報課 TEL029-838-7272

〒305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2

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