

ISSN 0287-4768

日本国際生命科学協会誌

食品とライフサイエンス®

FOOD ISSUES IN LIFE SCIENCES

No. 23
1988



日本国際生命科学協会

International Life Sciences Institute of Japan

日本国際生命科学協会（International Life Sciences Institute of Japan：ILSI Japan）は、健康、栄養および食品関連の安全性に係る諸問題を解決することを目的として、産業界が中心となり、学術機関、政府機関の協力を願い、科学的な観点から調査研究を推進するために設立された非営利の科学団体であり、国際的には（International Life Sciences Institute：ILSI）と連絡をとりつつ、活動を行っています。

本会誌名「食品とライフサイエンス」は昭和60年7月29日に
商標登録されています。

食品とライフサイエンス

No. 23 1988. 12. 15

目 次

バイオテクノロジー利用製品の安全性について……小 原 哲二郎……	3
日本国際生命科学協会主催 ILSI バイオテクノロジー国際セミナー 「新技術利用発酵食品開発の基礎と社会的評価」の講演概要	
酪農乳酸菌の分子育種の世界的動向……McKay, L.L. ……	7
酵母の線状DNAキラープラスミド —基礎と応用— ……郡 家 徳 郎……	11
枯草菌の遺伝的特性の解析と有用酵素の生産……Venema, G. ……	20
DNA再編成と微生物育種の進め方……矢 野 圭 司……	27
米国における新技術利用食品の安全性に対する 考え方……Maryanski, J.H. ……	37
食品行政における新技術利用食品の位置づけ……稲 葉 博……	44
ワーキング・グループ通信 ……	51

FOOD ISSUES IN LIFE SCIENCES

No. 23 December 15, 1988

CONTENTS

Safety of the Products Made by Biotechnology T. Obara	3
ILSI Japan International Seminar on Biotechnology — Future Prospect for Applications of New Technology to Fermented Foods	
Update on Dairy Starter Cultures : Genetics and Biotechnology of Dairy Streptococci..... Larry L. McKay.....	7
Replication of Yeast Linear DNA Killer Plasmids — With a Review of Recent Progress in Yeast Genetics Norio Gunge	11
Competence and Plasmid Stability in <i>Bacillus Subtilis</i> and Prospects for the Production of Enzymes Important for Dairying in <i>B. Subtilis</i>	G. Venema 20
Strategy for Breeding of Microorganisms in Relation to DNA Rearrangement	Keiji Yano 27
Prospects for the Safety Evaluation of Foods in the U.S.A. in Connection with Biotechnology	James H. Maryanski 37
Position of Foods Made by Novel Technologies in Food Administration	Hiroshi Inaba 44
Brief Communication from Study Working Group.....	51

バイオテクノロジー利用製品の 安全性について



小原 哲二郎

今世紀の後半に至り、学問的手法が発達したことにより急速な進歩をみた学問領域の一つに生命科学の分野があります。

いまさら申し上げるまでもなくその中で、特に遺伝子、分子生物学が解明してきた領域を応用したバイオテクノロジーは、これまでの発酵を中心としてきた技術をさらに一步前進させ、遺伝子や細胞レベルでの操作を可能としたことなど、その応用は将来の私たちの生活に大きな貢献を及ぼすことが予想されます。

既に21世紀における重要技術の最右翼として、農畜産業や漁業といった第一次産業から食品、発酵、医薬、化学等の諸工業の生産手段とすべく、現在世界的にも産学官をあげてその研究に取り組んでいることは周知のとおりであります。

日本国際生命科学協会においては、産業界の立場から元来人の口より入るものを対象に、その人体に及ぼす安全性について種々の角度からの検討を行うことを目的としており、これらバイオテクノロジーまたはバイオインダストリーによって生産される産生物についても一層の関心を持っております。既に今年度よりバイオテクノロジーに関する安全性評価についてのワーキング・グループを発足させることにより、一步を踏み出しております。

また本年6月に「ILSIバイオテクノロジー国際セミナー」の開催を行いました。このことは、本来は本協会の会員でもある関係者がヒューマンサイエンス振興財団の乳酸菌における新技術開発研究の中で検討を進めていたものですが、その研究会の強い要請もあり、バイオテクノロジーについての活発な事業

日本国際生命科学協会会長

Safety of the Products Made by Biotechnology

Dr. TETUJIRO OBARA, PRESIDENT,

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE
OF JAPAN

活動を推進している財団法人ヒューマンサイエンス振興財団のご後援のもとに、日本国際生命科学協会が主催することに相成った次第です。

21世紀を目の前にいたしまして、バイオテクノロジーの実現し得る社会、バイオテクノロジーの実現のもとの人々の生活について、様々の可能性と困難性が論議されております。もちろん、私どもは新しい技術が、人類の平和で安全な生活を実現することを乞い願わなければなりません。

このような意義をふまえて、日本国際生命科学協会としては今後とも、今後の最重要技術と目されるバイオテクノロジー、特にその利用により産み出されてくる製品の安全性について、今後とも深い注意をもって検討を行っていくものであります。

ILSIバイオテクノロジー国際セミナー 「新技術利用発酵食品開発の基礎と 社会的評価」の講演概要

日本国際生命科学協会では、昭和63年6月9日および10日の両日にかけて、国際セミナーを下記のプログラムどおり実施した。参加人員は会員ならびに会員外を合わせて延べ124名であった。

当日の講演の詳細については、近く印刷物として配布される予定である。本誌ではその内容を広く紹介する目的で、講演の概要をとりまとめ印刷を行ったものである。

(文責 編集委員会事務局)

第1日(6月9日)

開会挨拶 小原 哲二郎 日本国際生命科学協会会長

紹介 コーディネーター

栗飯原 景昭 前国立予防衛生研究所食品衛生部長

セッションI 座長 森地 敏樹 農林水産省畜産試験場企画連絡室長

酪農乳酸菌の分子育種の世界的動向

McKay, L. L. 米国、ミネソタ大学

酵母の線状DNAキラープラスミド—基礎と応用—

郡家 徳郎 熊本工業大学教授

**ILSI Jpan International Seminar on Biotechnology — Future Prospect
for Applications of New Technology to Fermented Foods**

June 9—10, 1988

International Lecture Hall, National Cancer Center

Tokyo, Japan

Sponcered by ILSI Japan

Japan Health Sciences Foundation

セッションⅡ 座長 別 府 輝 彦 東京大学教授

枯草菌の遺伝的特性の解析と有用酵素の生産

Venema, G. オランダ, グロニンゲン大学教授

DNA再編成と微生物育種の進め方

矢 野 圭 司 東京大学教授

第2日(6月10日)

セッションⅢ 座長 義 平 邦 利 国立衛生試験所食品添加物部部長

米国における新技術利用食品の安全性に対する考え方

Maryanski, J.H. 米国食品・薬品庁

バイオテクノロジーコーディネーター

食品行政における新技術利用食品の位置づけ

稲 葉 博 厚生省生活衛生局食品保健課

新開発食品保健対策室長

セッションⅣ

パネルディスカッション—発酵食品への新技術利用の将来—

司 会：矢 野 圭 司, 栗飯原 景 昭

パネラー：MaKay, L.L., Venema, G., Maryanski, J.H.

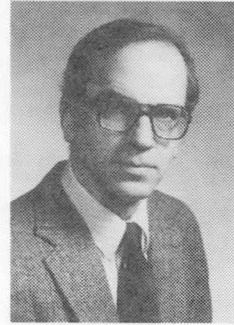
郡 家 徳 郎, 稲 葉 博

閉会挨拶 若 林 健 市 (財)ヒューマンサイエンス振興財団

研修小委員会委員長

酪農乳酸菌の分子育種 の世界的動向

McKay, L.L.



過去、10数年の間に、酪農用乳酸球菌に対する関心が大きく高まってきた。その原因の一つとして遺伝学的手法の発達により菌株の改良が可能となったことがあげられる。ここではわれわれの研究室の研究を中心にしてそのプラスミドの生物学的的重要性について述べる。

酪農乳酸菌のプラスミド

酪農用乳酸菌は一つの細菌当たり、4～7種のプラスミドを1～12ヶといった範囲で持っている。これらの大部分は潜在性プラスミドといわれ、その機能の多くは未だ解明されていない。しかし、その一部のプラスミドDNAに関して大変重要な代謝機能、すなわち微生物の物質利用の能力との関連性が明らかにされつつある。

たとえば、乳糖、たん白分解活性、クエン酸利用など。そしてこれらの結果としてアロマの産生が可能となる。また幾つかの抗菌物質、Nisinの産生能、Nisinに対する耐性、バクテリオファージに対する耐性、粘質物質とか菌体外ポリマーの産生をあげられる。この性質はスカンジナビア地域のさまざまな乳製品の製造に大変重要な役割を果たしている。

米国、ミネソタ大学教授

Genetics of Dairy Starter Cultures : Breakthroughs for Biotechnological Exploitation of Lactic Acid Bacteria Used in Dairy and Food Fermentations.

LARRY LEE MACKAY, Ph.D, PROFESSOR
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND
NUTRITION, UNIVERSITY OF MINNESOTA,
ST. PAUL, MINNESOTA, U. S. A.

乳酸発酵能力

乳糖の分解利用に関与する三つの特異酵素すなわち Enzyme II-Lac、Enzyme III-Lac、およびホスホ-β-ガラクトシダーゼは、プラスミド DNA を介して作用が行われる。したがってその遺伝子をクローニングしてプラスミドのコピー数を高めればその細胞の代謝酸量を増やせる。われわれは接合によって中温性のラクトース陽性の *S. lactis* 株を分離した。制限酵素を使って制限部位の分析を行うと、ラクトース利用能をコードした遺伝子の転移が 5 Kb に起こったことがわかった。この菌株はホスホ-β-ガラクトシダーゼ活性が通常菌に比し、2 倍も高かった。

これら中温性乳酸球菌と比較して、*Streptococcus thermophilus* の研究に対する関心は低かったようである。この菌は β-ガラクトシダーゼを有しており、一方、β-ガラクトシダーゼを過剰に産生する菌は工業的に有用である。そこでわれわれは通常の DNA 組換え法を用いて同酵素の産生をコーディングしている遺伝子のクローニングも試みた。

そして、*S. thermophilus* の染色体の中から約 7 Kb ほどの遺伝子が挿入された、組換えプラスミドを取り出すことに成功した。現在はこの遺伝子の DNA 塩基配列の決定を行っている。

プロテアーゼ活性

酪農乳酸菌の発酵課程の第 2 番目の特性として、プロテアーゼ活性がある。これら産生されたプロテアーゼの酵素系によって、生育に必要な窒素化合物を得る。工業的にはチーズの熟成に関連がある。このプロテアーゼ産生能はプラスミド DNA 1 にあることがわかっている。一方、その産生能は甚だ不安定であり、しばしば産生能を消失することもあるため、そのような菌は 48 時間以上もかかって乳を発酵させることになる。

イギリスの Gasson & Davis の研究で、プロテアーゼをコーディングした遺伝子が、菌株の間で交換されることが示されている。その遺伝子の発現レベルのコントロールは現在の遺伝子工学手法をもってすればおそらく可能であり、このようにして得られた菌株ではチーズの熟成が促進されよう。

この考え方として、プロテアーゼの遺伝子からのクローニング、およびその遺伝子の DNA 塩基配列決定が最近成功している。

チーズ熟成時間の短縮

米国でこれに要するコストは月換算 1,900 万ドルになると推定されているため、この短縮化の経済効果は甚だメリットがある。その手段として、酵素活性あるいは酵素濃度を高めることが試みられている。現在、細胞内酵素を遊離する菌株を分離することが最も有効と考えられ、多くのチーズメーカーが研究を行っている。その基礎となる考え方は日本の門田の溶原性乳酸菌の研究である。われわれもこのような温度感受性の変異体を 2 つ分離できた。いずれも 30℃では増殖し、40℃で溶菌が生ずるため細胞内酵素の放出が生ずる。

バクテリオシンの産生

バクテリオシン産生能を高めた菌株を開発するため産生菌 *S. diacetylactis* WM 4 を供与体とし、一方受容体として lac 陰性、抗菌性物質陰性の菌株を選んで接合試験を行った。その結果、1 つは lac 陽性、バクテリオシン陰性、今 1 つは lac 陽性、バクテリオシン産生の 2 種類の接合体が得られた。また、ラクトースとストレプトマイシンに対する感受性の相違する接合体を作り、その中から lac 陽性、ストレプトマイシン耐性のもので選んだ。そしてさらにその中からバクテリオシン産生株を選んだ。

これら種々の性質の菌株を用いて、バクテリオシン産生能がプラスミド介在かどうかを求めた結果、ラクトース発酵能力は 33 MD のプラスミド、そしてバクテリオシン産生能は 88 MD のプラスミドと関連することがわかった。さらにバクテリオシン産生能をコーディングしている遺伝子のクローニングを試みた。これは制限酵素 *BclI* を用いてプラスミドを断片化し、乳酸球菌用のベクターの特定部位に連結させ、宿主菌に導入し、プラスミドフリーなものからエリスロマイシン耐性能を持ったものへの形質転換を図った。その結果、エリスロマイシン耐性でバクテリオシン産生能を有する 1 菌株を得ている。これから、バクテリオシン産生をコーディングする遺伝子を確認するため、制限酵素 *BclI* による制限部位分析を行っている。

クローンした断片によって産生されたバクテリオシンの量は、親株のそれより多く、これは産生を指示するプラスミドのコピー数が増加するためとみられる。これから遺伝子工学手法によって食物由来の新しい菌株を得て、それを利用して食物の腐敗を防ぐ抗生物質を大量に生産できることが示唆される。

ナイシンの産生

1951年に、ナイシンが食品の保存剤として利用できるのではないかということが示唆された。これは、*S. lactis*の一部の菌株が産生する小さなポリペプチドで、グラム陰性菌、真菌、糸状菌に対しては活性を示さないが、多くのグラム陽性菌に対しては抗菌活性を有する。ある種のチーズでは酪酸菌によるガス発生や、*Staphylococcus aureus*の増殖を、ナイシン産生菌が防止している事実も認められている。

そこでナイシン産生をコーディングする遺伝子を、クローニングすることに関心が寄せられている。ナイシンを産生する乳酸球菌以外では乳酸桿菌や *Pideococci* も有望視されている。

クローニング・ベクターの構築

そのほか、Venema教授らの *Bacillus subtilis* 中での、*S. cerevisiae* Wg 2の潜在性プラスミドの複製の事実の発見が、「第二世代」といわれる数多くのクローニング・ベクターの開発に繋って行ったこと、また、これらプラスミドの活用が遺伝子工学の活用に変役に立っていることなどを、ナイシン産生遺伝子のクローニング等を例にとって説明した。

また、これらプラスミドの「食品グレードのクローニング・ベクター」（すでに食品として利用している微生物の遺伝子から構築したベクター）としての活用の検討を行っている。

酵母の線状DNAキラープラスミド

付．酵母遺伝学研究に於ける最近の進歩



郡家 徳郎

酵母遺伝研究の発展

酵母菌の遺伝子操作研究は、大腸菌に較べると若干遅れて、1978年代の後半から研究が始まっている。70年代の後半には遺伝子バンクが作られ、また形質転換の技術が開発されるなどして宿主ベクター系の確立があった。1980年代の初めの数年は、酵母の染色体のDNA複製起点、セントロメア (centromere)、末端構造テロメア (telomere) などが次々と分離クローン化され、染色体の機能がDNAレベルで解明されて行った時代である。

それから、染色体工学研究の基礎が築かれたこと、また多くの遺伝子発現の機構研究が進み、プロモーターやターミネーターなど遺伝子の非翻訳領域の構造などが明らかにされたことなど、発現ベクターの開発に有用な知見など得られた。この間逆遺伝学 (reverse genetics) の技術や遺伝子破壊 (gene disruption) の方法なども次々と開発されてきた。

一方、いろいろな異種生物の遺伝子を酵母に、クローニングさせる方法もいろいろ工夫されてきた。それと平行して遺伝子のプロモーター、特にプロモーター上流域の構造と調節機構との関係についての解明が進み、動物遺伝子のプロモーター上流のエンハンサー (enhancer) と呼ぶ転写促進の調節領域に相当する機能のUAS (upstream activation site) と呼ばれる領域があることも明らかになった。

いろいろな酵母遺伝子の発現が転写レベルで制御されていること、1倍体と2倍体の間で接合反応や胞子形成能などの、生物機能が異なることについての遺伝的機構が解明されてきた。

熊本工業大学教授
応用微生物工学科

**Replication of the Yeast
Linear DNA Killer Plasmids**
Dr. NORIO GUNGE
KUMAMOTO INSTITUTE OF TECHNOLOGY

酵母の宿主ベクター

酵母の宿主ベクター系はパン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* で始まり、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe*, 乳糖資化性酵母 *Kluyveromyces lactis*, 石油資化性の *Yarrowia lipolytica* や *Candida maltosa*, 飼料酵母 *Candida utilis*, メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* へと次々と広がり、それぞれ生物種の特徴・相異を生かして開発が進められている。

S. cerevisiae では、 YI_p , YE_p , YR_p , YRM_p , YC_p , YL_p など遺伝子操作に用いるベクターが開発されている。 YI_p というのは $pBR322$ などの大腸菌ベクターに酵母の検出マーカーを付加したベクターで、酵母 DNA の複製オリジナルを有しないため、酵母細胞に形質転換で導入しても自動的に増殖できない。したがって形質転換体は極めて低い頻度で染色体にインテグレートした場合にのみしか、得られないことになる。この性質を用いて、逆遺伝学実験などある目的の遺伝子を染色体に挿入したいときに利用される。また外来 DNA 断片をつないで、DNA 断片に酵母で働く複製オリジンが含まれているか否かを検出するのに盛んに利用されている。

YE_p は酵母の 2 μ m プラスミドの複製オリジンをレプリコンに使ったベクターで、比較的安定でコピー数も高いので使い易く、酵母で最もよく利用されるベクターである。 YR_p は酵母染色体の複製オリジンを使ったベクターで、酵母の中では多コピーで自律増殖し、不安定で細胞から脱落しやすい性質がある。それから細胞内で染色体と独立増殖しているミトコンドリア DNA の複製オリジンを利用して、 YRM_p ベクターが作られている。 YR_p に酵母染色体のセントロメアを付加して安定性を高めたのが、 YC_p ベクターである。セントロメアは、細胞分裂の際に倍加した染色体を母細胞と娘細胞とに均等分配する役割をもった染色体の重要なエレメントで、その DNA 断片をベクターにつなぐとその安定分配機構がベクター上で働いて分配性がよくなり、ベクターの安定性が高まるとされている。 YC_p ベクターはコピー数が少なく、細胞当たり 1-2 ケである。

YL_p は環状の YC_p ベクターに 1 ケ所、制限酵素で切れ目を入れて線状化し、その両端に原生動物テトラヒメナの線状リボゾーム DNA の先端領域をつないで作った線状のミニクロモソム (mini-chromosome) ベクターで、酵母の中で線状構造で複製増殖することから、染色体の複製や分配機構を調べるモデルとして使われるベクターである。以上のベクターに強力な酵母遺伝子のプロモターを挿入して、同種・異種遺伝子の発現に有用な発現ベクター (expression

vector)もたくさん作られている。接合型 a または α の細胞は、それぞれ a 性ホルモンや α 性ホルモンを分泌しているが、このような性ホルモン遺伝子の分泌シグナルを利用した分泌ベクターもある。分泌シグナルの下流に目的のタンパク質遺伝子をフレームをあわせてつなぎ、遺伝子を発現させて目的のタンパク質を細胞外に分泌生産させることもできる。分泌シグナルとしてはインベルターゼ遺伝子や、キラー遺伝子のものも有効である。このような発現ベクターや分泌ベクターを使って、ヒト・インスリン、インターフェロン、リゾチーム、成長ホルモン、インターロイキン、B型肝炎ウイルス抗原、カビのアミラーゼ、仔牛のカイモシン、植物のタンパクなどが酵母で作られている。

酵母プラスミド、特に pGKL 1 と pGKL 2

プラスミドはベクター作成の有力な素材であるばかりでなく、核外DNAの複製、生物機能を分子レベルで調べるのに恰好の材料で、新しいプラスミドを探索する研究も盛んに行われている。酵母プラスミドの多くは原核生物のプラスミドと同様、環状DNAである。ところが、*K. lactis* 株から2種類の線状DNAプラスミド—GKL 1 (8.9 kb) と pGKL 2 (13.4 kb)—が発見された。この *K. lactis* の pGKL 線状プラスミドはキラー毒素を生産しいろいろな感受性酵母を殺すというの検出マーカーを持っているため、遺伝学に研究を進める上で便利である。最近、*Sacharomyces kluyveri* や *Sacharomycopsis crataegensis* 等の酵母からも新しい線状プラスミドが発見されているが、pGKL と異なり検出マーカーを持たない潜在性プラスミド (cryptic plasmid) である。キラー酵母といえば *Saccharomyces* のキラー株が有名であるが、こちらは2本鎖RNAプラスミド支配で、キラー毒素の性質も異なっている。

この2種類のプラスミドは同じ細胞内に、それぞれ100コピーあまり含まれていて、キラー毒素の分泌をコードする。毒素の作用範囲は広く *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Candida* など多くの酵母を殺す一方、プラスミドには毒素耐性の遺伝子も乗っているの、宿主自身は免疫があり殺されない。pGKL プラスミドは細胞内で通常安定に複製維持されているが、低い頻度で細胞から同時に脱落したり、あるいはpGKL 1が消失してpGKL 2だけが残って増殖している突然変異体もある。このような突然変異体はキラーと耐性の形質を示さず、毒素感受性の nonkiller である。このようなことから毒素生産と耐性形質は、共に小さい方の pGKL 1 によって支配されていることがわかってきた。

pGKL 1がなくても pGKL 2は単独で複製可能だが、pGKL 1だけで複製しているような突然変異体は未だかつて見付かっていないため、pGKL 1はpGKL 2に依存して複製されているということになる。このような幾つかの実験結果から、pGKL 2はpGKL線状プラスミドの複製に関するいろいろな遺伝情報を担っている、と私達は考えている。pGKL プラスミドはもともと *K. lactis* で発見されたもので、細胞融合とか形質転換法によって、*S. cerevisiae* や *Candida* のような異種酵母に導入すると、異種酵母の中でも線状構造で複製し、また pGKL 2だけでも増殖可能である。このように複製のパターンには殆ど変化が見られないことから、pGKL プラスミドは、複製に必要な基本的情報をそれ自身すべて担っていて、宿主への依存性は高くないようである。

このような pGKL キラー現象には 2つの応用面が考えられる。*S. cerevisiae* の 2本鎖 RNA キラープラスミドは、ビール酵母、ワイン酵母、清酒酵母等に入れて発酵タンクの雑菌汚染防止には利用されているが、DNA キラープラスミドについても同様のことが可能であろう。もう 1つの応用として、毒素分泌能を支配しているキラー遺伝子の分泌シグナルを用いて、新しい分泌ペクターを作ることが考えられる。実際にそのようなペクターは既に作られていて、ヒトや動物の有用な遺伝子産物の発現分泌が報告されている。

pGKL プラスミドの複製の問題

pGKL 1はその全塩基配列が決定されて、4つのオープン・リーディング・フレーム (ORF 1、ORF 2、ORF 3、ORF 4) から構成され、 α と β サブユニットは ORF 2 から、 γ サブユニットは ORF 4 から、耐性は ORF 3 からコードされている。pGKL 1の一番左側にある ORF 1 は最近、その変異に関する私達の研究によって、pGKL 1の複製に重要な役割を果していることがわかってきた。

pGKL 2は線状プラスミドの複製・維持に必要で、塩基配列は現在のところ両末端の一部が報告されているのみで大部分は解析されておらず、遺伝情報についての詳細も不明であった。(講演者注：原稿校正中、pGKL 2の全塩基配列が報告された。)

ところで pGKL プラスミドのような線状 DNA ゲノムの複製には一つの問題がある。DNA 合成の開始にはプライマーを必要とするのが原則である。DNA 合成が完了しプライマーが除かれたあと、5'末端にはギャップが生じる。pGKL 1 と pGKL 2 の 5'末端にはタンパク質が付着しており、その大きさは、

pGKL1で28 kd、pGKL2で36 kdである。このような結果から、pGKLプラスミドの複製はアデノウイルスと同様、末端タンパクをプライマーとして、新生DNA鎖がもとのDNA鎖を置換しながらDNA合成が進行する、strand displacement 機構によると考えられる。

ところで、pGKLプラスミドからは自然突然変異や誘発突然変異の結果、ゲノムの内部や先端部が欠失したいろいろな deletion タイプのプラスミドがとれており、これらは線状プラスミドの機能と構造との関係を調べるのに有用な材料である。

pGKLからのプラスミドの生成機構

ところで最近、pGKL保有の*K. lactis* キラー株を紫外線照射して得た nonkiller 株から F2, F1 と構造がよく似たヘアピン型のプラスミド pK192S とパリンドローム型の pK192L が得られている。これらのヘアピン型、パリンドローム型プラスミドが pGKL1 からどのような過程で生成されるか、その生成の機構、また両プラスミドが細胞のなかで常に共存していて、複製に pGKL2 のみならず pGKL1 をも必要とする理由などについて述べてみる。

K. lactis キラー株を紫外線照射して得られた nonkiller 株の中から、pGKL1、pGKL2 と共に pK192S、pK192L プラスミドをもつ変異株が分離されている。これらの新しいプラスミドは常に共存しており、繰り返しサブクロニングしてもお互いに、また pGKL1、pGKL2 から分離しない。つまり pK192S、pK192L、pGKL1、pGKL2 の4本のプラスミドが何時も1組となって複製している訳である。

pK192S がヘアピンプラスミドであり、pK192L がパリンドロームプラスミド、つまり pK192S の逆向き2量体であることは、DNA変性アニーリング実験から明らかにされている。

pK192L、pK192S の構造をもう少し詳細に調べたいと考え、1部シーケンスなど行って得られた結果は次のとおりである。すなわち、既に報告されている pGKL1 の塩基配列を調べた結果、pK192L は pGKL1 の塩基ナンバー2345-2559間の215bp塩基配列を中央にして、その前後に pGKL1 の塩基ナンバー1-2344の塩基列が逆向きに並んだ、パリンドロームプラスミドであることがわかった。

したがって、先程のDNA変性実験の結果と考え合わせると、ヘアピンプラ
食品とLS №23 1988

スミド pK 192 S の末端にある 1 本鎖 DNA ループ配列は、pK 192 L の中央にある 215 bp の塩基配列から由来していることになる。そしてループでつながれた 2 本鎖 DNA の塩基配列は、pGKL 1 の塩基ナンバー 1-2344 の塩基配列と同一であることが明らかになった。ORF 1 は塩基ナンバー 213-3200 間の配列で、pK 192 L、pK 192 S は ORF 1 のカルボキシル基末側の約 20% を欠いていることになる。

さて以上のような結果に基づいて、ヘアピン型、パリンドローム型プラスミドの生成機構は次のように説明される。

pGKL 1 の PR F 1 領域内では、215 bp 塩基配列が 13 bp のインターナルな逆向き配列で囲まれている。ここで紫外線照射によって 13 bp 反復配列の 3' 側下流のあるところで、pGKL 1 プラスミドが切断されたと仮定した結果、切断されてフリーとなった 2 本鎖 DNA の 5' 末端から 5' → 3' 方向に分解する DNA エキソヌクレアーゼが働き、5' 末端にタンパクが付いていたもう一方の一本鎖 DNA が残る。この 1 本鎖 DNA は 13 bp のインターナル反復配列のところで相補的に重なって 2 本鎖となり、その間に挟まれた 215 bp 塩基配列が 1 本鎖ループを形成する。13 反復配列下流にある 1 本鎖 DNA は DNA 分解酵素で消化され、そのあと DNA 合成酵素によって修復複製され、最終的にヘアピンプラスミド pK 192 S が出来上がることになる。

パリンドロームプラスミド pK 192 L の生成は pK 192 S が作られ、5' 末端のタンパクをプライマーとして複製を開始し、strand displacement 方式に従い 1 本鎖ループのところを押し広げながら複製は進行する。その結果、ヘアピンプラスミドのループに相当する 215 bp の塩基配列を中央として、その左右に長い逆向き反復配列が並んだパリンドロームプラスミド pK 192 L が作られる。これはアデノウイルスの type I 複製に従って複製が繰り返され、そしてその複製過程で押し出された 1 本鎖 DNA は、その中央を占める 215 塩基の配列を挟む長い逆向き配列が 2 本鎖に重なってヘアピン構造となり、pK 192 S が再生する。

このように、ヘアピンプラスミドとパリンドロームプラスミドの複製は相互依存しているわけで、2 つのプラスミドが細胞の中で共存し離れ離れにならないのはこのような機構によると考えられる。

次に pK 192 S、pK 192 L の複製が pGKL 2 のみでなく、pGKL 1 にも依存する理由について触れてみる。pGKL 1 に由来する欠失プラスミド pGKL 1 S や、F 1、F 2 の複製は pGKL 2 のみに依存しており、pGKL 1 を必要としない。プラ

スミドの構造を比較すると、pGKL1SやF1, F2, にはpK192L, pK192Sで部分欠失しているORF1が、問題の欠失プラスミド複製に重要な情報を含んでいる可能性が高いと推定される。

したがってORF1がpGKL1の複製に必要なDNAポリメラーゼをコードしているとすれば、pK192S, pK192LはこのDNAポリメラーゼをインタクトに作る事ができず、その供給源としてのpGKL1やpGKL1Sのような完全なORF1をもつプラスミドがないと複製できないということになる。

pGKL プラスミドの機能

以上の結果から、pGKL1の機能は次のように表すことができる。すなわち、ORF1のDNAポリメラーゼはpGKL1の複製に特異的なDNAポリメラーゼで、ORF2、ORF4のキラー毒素生産、ORF3の毒素耐性、これら4つのORF領域は全部合わせるとpGKL1全塩基配列の95%を占めてしまう。つまりpGKL1は以上のような遺伝子でコンパクトにぎっしり詰まったプラスミドということである。したがってpGKL1の複製に必要な28kdの末端タンパクを作る余裕はなく、その末端タンパクはpGKL2によってコードされていることになる。このようにpGKL1やpGKL1に由来するプラスミドがpGKL2に依存する少なくとも一つの理由は、pGKL1の末端タンパクの生産にあると思われる。

単独で複製可能なpGKL2には、当然自己の複製に必要なDNAポリメラーゼ、36kdの末端タンパクとpGKL1の28kd末端タンパク、DNA結合タンパクなど、線状DNAの複製に必要ないろいろな因子をコードする遺伝子が含まれていると考えられる。線状プラスミド複製の詳細を明らかにする上に、pGKL2の全塩基配列の決定がまたれるところである。

pGKL プラスミドの挙動

S. cerevisiae はミトコンドリアDNAを全く持たない ρ_0 変異株なので、核外のDNA粒子はすべてpGKLプラスミドである。*S. cerevisiae* はミトコンドリア機能がなくても解糖エネルギーを用いて生存できる。

S. cerevisiae では遺伝学的な研究が非常に進んでいて、いろいろな生化学的突然変異株が分離されているため、*S. cerevisiae* を宿主とすれば *Kluyveromyces* 酵母ではできない多様な遺伝学的、生化学的実験が可能となり、線状プラ

スミドの特徴が異なる角度から解析され新たな知見が得られる可能性がある。このように考えて、*S. cerevisiae* に pGKL プラスミドを導入してみた結果、予想しない現象が観察された。一つは *S. cerevisiae* ミトコンドリア DNA との不和合性 (incompatibility) の問題である。ここでミトコンドリア DNA との不和合性とは、ミトコンドリア DNA を欠く ρ_0 細胞では pGKL プラスミドは安定に複製・維持されるが、ミトコンドリア DNA を持つ $\rho+$ 細胞ではプラスミドが不安定となり、細胞から高頻度に脱落することである。

ミトコンドリア DNA 不和合性にかんする実験データでは、安定な pGKL ρ_0 株に、いろいろな $\rho+$ テスターを交雑してみた結果、いずれの場合もプラスミドの 2 倍体への伝達頻度はせいぜい 10% あるいはそれ以下であった。ところが ρ_0 テスターを交雑するとその頻度は 60 - 80% 近くまで高められた。

このようにミトコンドリア DNA がいない場合、2 倍体への伝達性は確かに高まるが、100% までには達せず 20 - 40% のクローンにはプラスミドが伝達されておらず、またプラスミドが伝達した 2 倍体クローンは ρ_0 株であるにもかかわらずプラスミドは不安定で、サブクローンするとプラスミドが高頻度に脱落していく。1 倍体 ρ_0 株で安定な pGKL プラスミドが、2 倍体になると ρ_0 株でも不安定になるのは何故か。この疑問を解くために以下のような実験を行った。

すなわち、pGKL を安定保有する ρ_0 キラー株 (MAT α) をプラスミドをもたない ρ_0 テスター (MAT $\alpha 1$) と交雑すると、2 倍体子孫には 70% 程度の頻度でプラスミドが伝達される。伝達されたプラスミドは不安定で、サブクローンすると脱落して nonkiller が高頻度に出てくる。これに反して matal 変異のテスターを交雑した場合、伝達頻度は余り変わらず、一旦移入したプラスミドは 2 倍体の中では安定に複製・維持され、サブクローンしたクローンの 90% - 100% がキラー細胞であった。このように線状プラスミドの 2 倍体造成時における伝達性にはまだ問題は残るにせよ、2 倍体造成後の安定性には MAT 遺伝子座の影響が確かに観察されている。

最近の研究によると a1- α 2 リプレッサーが hsg 遺伝子の発現を抑制するのは、hsg 遺伝子のプロモーター上流にある UAS (upstream activation site) にリプレッサーが結合し転写レベルで遺伝子発現を抑制するとされている。私共は pGKL 2 の上にあると予想される線状プラスミドの DNA ポリメラーゼ、末端タンパク、DNA 結合タンパクなどの遺伝子上流に a1- α 2 リプレッサーが結合し、複製機能が低下するためにプラスミドが不安定になる可能性など考えている。

a1- α 2リプレッサーの作用するhsg遺伝子のconsensus sequenceがpGKL2の塩基配列上にも見いだされていることから、その可能性は高いと思われ詳細を検討中である。

pGKLプラスミドのミトコンドリアDNAとの不和合性、交雑に伴う安定性の低下といった現象はいずれも*S.cerevisiae*に特異的なもので、もともとプラスミドが発見された*K.lactis*では観察されていない。宿主の遺伝的背景あるいは生物学的環境変化とプラスミド機能との対応を探る上に興味ある問題である。

枯草菌の遺伝的特性の解析 と有用酵素の生産



Venema, G.

バイオテクノロジーよりみた枯草菌の特性

初めに外来性の遺伝子の発現のために、なぜ枯草菌を使うのかを説明したい。枯草菌は、いろいろな細胞分化を示し、芽胞形成もするプロカリオートであり、いろいろな分化過程を検討する上で大変興味のある菌である。

自然に形質転換を行い、それから商業的にも重要であるいろいろな酵素を分泌することは発酵業界においてもよく知られている。最も重要なことは、遺伝的観点からいうと第2番目によく知られたバクテリアであることである。

欠点としては、ショットガン・クローニングが効率的にいかないということである。特に、大腸菌の中で遺伝子のクローニングをする上で、この効率の悪さは問題になる。また、プラスミドが失われてしまったり、プラスミドが不安定性を示す。

枯草菌へのプラスミドの取込み

枯草菌の中にプラスミドを取り込ませるというやり方に、3つの基本的なシステムがある。まず第一は、反応能細胞 — コンピテント・セルのシステムを使うこと。これは、共有結合を有したマルチメリックなプラスミドDNAのみを介して、その形質転換が可能である。第二は、コンピテント・セル・システムの代替となるプラスミド・レスキュー・システムを使うこと。それから第三に、

Groningen 大学教授

Competence and Plasmid Stability in Bacillus subtilis, and Prospects for the Production of Enzymes Important for Dairying in B. subtilis

G. VENEMA, Ph. D

DEPARTMENT OF GENETICS, CENTRE OF
BIOLOGICAL SCIENCES UNIVERSITY OF
GRONINGEN, THE NETHERLANDS

人工的なシステムであるプロトプラスト系を使うこともできる。プロトプラストのレスキュー・システムでは、モノメリックな、あるいはマルチメリックな多重結合体などのプラスミドを用いることができる。プロトプラストシステムの場合、モノメリック、あるいはマルチメリック両方のDNAが、80%程の効率でプロトプラストに取り込まれることが知られている。天然のコンピテント・セルを使う利点は、修復の点、あるいは選択がしやすいというような点があげられよう。

しかし、欠点は、このような天然のコンピテント・セル・システムにおいては、やはりショットガン・クローニングが効率的にできないことである。それから、プラスミドのレスキュー・システムの欠点となるのは、供与されるプラスミドと元からある固有のプラスミドとを分けるときに、セグリゲーションあるいはリトランスフォーメーションという過程をとらなくてはならないこと。次に、プロトプラスト系の欠点は、複雑な培地でプロトプラストを再生しなければならず、形質転換株を簡単に選択することができないこと。

これら3つのシステムの違いは、供与DNAがその細胞の中に取り込まれる様式の違いによっている。

マルチメリックなDNA分子の形質転換での活性は、まず細胞表面においてプラスミドDNAに切断が起こり、その二重鎖DNA分子を細胞が取り込み、そして同時に二重鎖の分離が起こり、細胞の中に単鎖DNAが2本できる。それから、ある特定領域において、このプラスミドがマルチメリックであることから対合し、それから修復とDNA合成が行われて、モノメリックな環状体の分子ができ上がる。

コンピテント・セルの系ではモノメリックDNAでは形質転換がうまくいかない。DNAモノマーの部分が取り込まれたストランドには、相補性がなく、したがって、最後にはブロークン・ダウンされ、形質転換株は得られないことになる。染色体DNAのインサートをプラスミドが持っている場合は一つの例外といえる。プラスミド・レスキュー・システムでは、受容細胞が1つのプラスミドを内包しているということが特徴である。

追加的なマーカーの存在でDNAは1本のストランドとして中に取り込まれ、それから相同性のあるものとペアリングを行う。そしてダブル・クロス・オーバーによって仮説的な中間帯ができる。そうすると、DNAの複製によって細胞内に、もともとのプラスミドと、組み換えされたものと、2つのプラスミド

がでし上がるこゝになる。このように欠点は明らかである。

すなわち、単にこの組換えのプラスミドを含む細胞だけになるまでには、完全なセグレーション（分離）がなされなければならないことになる。特に問題になるのは、この固有のレジデント・プラスミドが非常にハイ・コピーなものであった場合には欠点になることである。

枯草菌での効率良いショットガン・クローニングの試み

私どもは、枯草菌での効率良いショットガン・クローニングを実際に開発してみようと試みた。すなわち、枯草菌のクリプティックなプラスミドを基とするプラスミドを取り上げた。このプラスミドは、pTA 1060 というもともとのプラスミドの ori と pUC 9 の ori を持っており、枯草菌でもまた大腸菌においても複製することができる。

大腸菌 DNA をショットガン・クローニングで、BcII サイトにエリスロマイシン耐性遺伝子をクローニングし、そして、3つの異なる宿主に対して、このライゲーションのミクスチャーを提示した。つまり、大腸菌、枯草菌の宿主——制限系のあるものとなないものの2種。

その結果、非制限系の枯草菌宿主のほうに大きな挿入が見られている。制限系、非制限系宿主を使ったプラスミドにおける生物活性の検討を行った。

同じモル濃度の DNA の場合、制限系を持つ宿主では、大きな挿入片を持っているものが制限に対して大変センシティブであるが、非制限系の宿主の場合だとその反対であるという違いがある。

プラスミドを非制限系の宿主、および制限系で非修飾性の大腸菌で増やした後、それらのプラスミドを制限系、あるいは非制限系の宿主に曝露した。制限系に対するセンシティブ性は、この挿入の大きさが大きくなるほどその感受性が高くなることが見られた。ということで、もし枯草菌でショットガン・クローニングをしようとするならば、宿主としてマールブルグの制限系を欠損しているものを使って、私が申し上げたベクターを用いることによって、大腸菌と同じだけショットガン・クローニングの効率を上げることができるようになる。

枯草菌の反応能、特に遺伝子との関係

DNA の取り込みに関して、ヌクレアーゼが大変重要であることを、私どもの以前の実験で明らかにした。

DNA取り込みができない、いくつかのミュータントの性質を調べたところ、それらの変異株はヌクレアーゼ活性を欠いていた。また、別のクラスのミューテーションにはヌクレアーゼが存在していた。しかしながら、こういうそのミュータントはDNA結合ができなかった。

次に、DNAの結合に関連しているだろうと考えられる部位の、たん白のキャラクタライゼーションを行った。その結果、野生株にはきれいな18KDのたん白があり、DNAと結合できない変異株にはそれが存在していなかった。次にこのたん白の純化を行った。反応能細胞の膜にあるたん白をヒドロキシアパタイトおよびDEAEのカラムクロマトにかけた結果、18KDのたん白をアイソレートすることができた。しかし、17KDのものをなくしてしまうことはできなくて、必ずそこに存在している。

さらに、セファクリルなども用いて純化を進めてコンタミネーションをすべて除いた結果、最終的に残ったのは18および17KDたん白であった。ということで、この2種のたん白は75KDの複合たん白の中に入っており、特に17KDのたん白は、ネィティブな成分として入っていると考えたわけである。すなわち、反応能のある細胞のメンブランには18KDのサブユニットと17kdのサブユニットが各2個ずつあることになる。

反応能のある細胞、コンピテント・セルが1本鎖のDNAを取り込むということがいわれているが、75KDたん白複合体が、単鎖DNAを生じるのかあるいは2本鎖DNAを生じるのかということも検討した。

カラムクロマトによって、二重鎖DNAと単鎖DNAとを分離し、この線状DNAを17KDたん白と一緒にインキュベーションした。つまり、実際には17KDヌクレアーゼであったが、二本鎖のDNAの量が17KDたん白とインキュベーションすることによって減少していることが見られた。また、部分的に単鎖のDNAの出現も認められた。そして、18KDのたん白をもこの中に入れてやると、ヌクレアーゼの活性が押さえ込まれ、それから一本鎖のDNAが明確に現れてきた。純化した18KDたん白はDNAに結合することができなかった。したがって、ヌクレアーゼの活性をモニターするために18KDのプロティンが必要であるということが、こういう一連の結果から考えられる。

このヌクレアーゼはいわゆる「DNAアンチヌクレアーゼ」と呼ばれ、その重要性から、私どもはそのクローニングを試みた。その目的達成のため、新しいミュータントを作成し、「PHP 33」と呼ばれているプラスミドに挿入によ

るミュータジェネシスを起こし作成した。その結果として重要なのは、ヌクレアーゼ細胞の膜に存在する17KDと14KDのヌクレアーゼである。これは私どもが作ったミュータントには見られなかった。

もしプラスミドが染色体の中にインテグレートされているならば、そのプラスミドをもう一度切り出すこともできるわけで、そしてライゲーションした後で大腸菌を形質転換するという方法によって、いいプローブを求めることができよう。たとえばバクテリオファージλの系などを用いて、枯草菌のバンクから良いプローブを求めることができるということである。そして、ヌクレアーゼの欠損するミュータントからもこのようなプローブを得ることができるので、このようなプローブにハイブリダイズした3つの組換えファージを見付けることができた。

それから、組換えバクテリア・ファージを大腸菌に感染させると、大腸菌のライセート中にヌクレアーゼの活性が見られる。

スタンダードなDNAの方法を使うことによって、700bpのDNAフラグメントの中にヌクレアーゼ活性をコードするDNAのフラグメントを特定することができた。染色体上のこのフラグメントの位置は、Pst IサイトとEcoRIサイトの間に当たる。したがって、このDNAの部分がヌクレアーゼの活性を特定することになる。

次には、DNAのアンチヌクレアーゼがまさにここであることをはっきりするために、この部分にクロマイ耐性遺伝子を挿入し、それによってヌクレアーゼ遺伝子の物理的な連続性を壊した。ヌクレアーゼの存在をこのようにして作ったミュータントで検討を行い、ヌクレアーゼがないことを確認した。

この700bpのものをプラスミド上に乗せ、そのプラスミドで形質転換させると、ヌクレアーゼ欠損型のものに活性が見られる結果になる。また、このミュータントに形質変換能力がかなり戻ってくるということにもなる。

ワイルドタイプの場合の形質転換頻度は、1%ぐらいである。ヌクレアーゼ遺伝子が分断されたミュータントの場合が0.05%。それからコンプリメンテーション(相補)の状況でやった場合は、かなりもとに回復していることが、0.37%という値から見られる。このような遺伝子が物理的に分断されているミュータントにおいて、こういう結果が見られたことは、驚くべきことである。

ヌクレアーゼの活性をコーディングしている遺伝子のすぐそばに、この遺伝子があるのではないかということが、こういう一連の結果から判断されるに至

った。これを検討したところ、18KDのたん白が見られないのにヌクレアーゼの活性があったという結果が得られた。

次には、形質転換において18KDのたん白の重要性の評価が必要となってきた。その結果、ワイルドタイプの4分の1の率で形質変換することが、このミュータントの場合見られ、しかし18KDたん白がないにもかかわらず、DNA結合能力はワイルドタイプと同じであった。この一連の結果から結論として引き出せることは、18KDのたん白は結合たん白ではないということである。しかしながら、このたん白の持つヌクレアーゼ阻害作用から考えると、18KDたん白は反応能のある(コンピテントな)枯草菌の膜の中で、ヌクレアーゼをモニターするのではないかと考えられる。

次に、プラスミドの安定性については、枯草菌における正確な切り出し頻度を見ることによって検討することができる。すなわち、枯草菌のプラスミドを組み換えて、つまりダイレクト・リピート(direct repeats)、逆反復(inverted repeats)、そしてinverted repeatsの間に挿入がある。

次にそれぞれの、すべての長さを変化させ、もしこのダイレクト・リピートのところにプレシジョン・エクシジョンが行われると、遺伝子はその作用を再発現することになる。この遺伝子としてクロラムフェニコール耐性遺伝子を使い、かつクロマイに対する耐性細胞がどれくらい出てくるかという頻度によって、正確な切り出しを調べた。その耐性株の出る頻度は、挿入部の長さを変えることによってそれほど変化は認められなかった。

酪農分野への適用の可能性

プロテアーゼ遺伝子のクローニングは、チーズの熟成の速度をはやめる上で重要なもので、私どもとしても枯草菌のクローニングを行った。

いろいろなBacillus由来のプロテアーゼの塩基配列との相同性を比較すると、乳酸球菌(*S. cremoris*)から得たプロテアーゼがサブティリシン(subtilisin)と大変よく類似していることがわかった。これら2種のプロテアーゼの間に、その構造上相同性を持つ部分が3つみられる。これは酵素の活性作用に大変重要でチャージ・ソレイ・システムをつくっている。このプロテアーゼはセリンプロテアーゼであることがわかってきた。

プロテアーゼ遺伝子の構造は、ORF 2でエンコーディングされており、アミノ酸数1,902ということで大変大きなものである。シグナル・シーケンス
食品とLS No.23 1988

やプロシーケンスもあり、それからオープン・リーディング・フレーム 1 があって反対向きに転写され、そのアミノ酸数は 299 となる。プロテアーゼの作用・活性のためにはこのオープン・リーディング・フレーム 1 が大変重要となる。

乳酸球菌のプロテアーゼの作用性を上げることによってチーズの熟成にかかる時間を削減することが可能であろう、という示唆がある。もう一つの可能性は、それは枯草菌に遺伝子をクローニングすることで、そうなると枯草菌はプロテアーゼを生産する生物とみなせる。そして、例えば、このようにして作ったプロテアーゼをカード（凝乳）に加えることにより、乳酸菌のプロテアーゼ生産性、あるいは活性を高めることと同じような効果を期待することができる。確かに、枯草菌においてプロテアーゼは認められているが、しかしながら、それが作用性を持つかどうかははっきりしていない。

強力なプロモーターを与えることによって、そのアクティビティをさらに高めることが可能となり、そして乳酸球菌の染色体からまさにそのような強力なプロモーターがアイソレーションされている。

おわりに

枯草菌に対するショットガン・クローニング、それも効率の高いものが入手できる、かつ使えるようになってきている。それから、反応能の発現において重要である遺伝子を 2 つアイソレートしたこと、またほかのグラム陽性菌において、このようなコンピテンス・ジーンがどのような形で働くかを見ることは大変興味があることである。

また、ベクターの中で DNA を安定維持させたいと考えたならば、ダイレクト・リピートとインバーテッド・リピートを組み合わせることはできるだけ避けねばならないということである。

以上、枯草菌というのは、食物生産において有用な酵素を生産する主体というふうに考えることができると思う。

微生物のDNA組換え能と 微生物育種の進め方



矢野 圭司

染色体DNAと遺伝情報

有史以前からヒトは、有用な生物種、またその変種を探し求め、選別し、交配を行い、また変異株を造成してきている。しかし、もともと細胞を基本構造とする生物の遺伝情報はDNAであることは確立された事実であり、そのDNAをいかに変えていくかということが、とりもなおさず育種を進めることになる。

現在、地球上の生物は大別して、①原核生物 — バクテリア、あるいは藍藻のように、染色体DNAが特に膜に包まれてないで細胞の中にかたまっているけれども広がりを持つ細胞。②私どもも含めて、真核生物 — 真核細胞 — といわれるもので、生物の遺伝情報が核膜に包まれて核として存在している。この2つの生物細胞の種類が地球生物になっている。

このDNAの本体というのは、いうならば全くの化学物質で、これを合成しようと、あるいはバクテリオファージやウィルスから取り出したり、われわれヒトのDNAから取り出しても、それぞれのブロック、つまり構成成分については全く同一で、またいろいろな酵素もそれに対応して働き得るといふことである。

普通、生物の細胞には、その細胞を規制するDNA、染色体DNAと一般に称しているものがある。そういう細胞を規制する染色体DNAとは別個に、遊離した小さなDNAがある。これがプラスミドで、染色体DNAとは物理的に

東京大学教授
農学部農芸化学科

Strategy for Breeding of Microorganisms in Relation to DNA Rearrangement

Dr. KEIJI YANO, PROFESSOR
DEPARTMENT OF AGRICULTURAL CHEMISTRY
FACULTY OF AGRICULTURE
THE UNIVERSITY OF TOKYO

全く独立して複製し、またその情報を後世に伝えるというものである。

いうならば、DNAの塩基配列 — その並び方と長さ、全体の形というものが生物種を規制するわけで、いろいろな生物種のDNAの表の一番下にわれわれのホモサピエンスがある。これをハプロイド、つまり私どもは父親と母親があり、その片親分のハプロイドの塩基対で見ると、実に32億という数の塩基対からわれわれは成立っている。われわれの染色体は23対、46個の染色体からできており、それを全部つなげると、実に片親から87Q、二親で1 m74Qぐらい長いDNA情報がそれぞれの細胞のそのまた中の小さな核膜の中に含まれていることになる。

ざっとの計算では、哺乳類の約10分の1の遺伝情報を持っているのが昆虫で、またその10分の1に *Saccharomyces cerevisiae* (酵母) とか、*Neurospora crassa* (赤カビ) とかが位置しており、そして、またその10分の1、哺乳類に較べて約1,000分の1のところ、いろいろなバクテリア — *Bacillus subtilis*、あるいは *Escherichia coli*、そういうものが存在している。プラスミドの中でよく実験に典型的に用いる pBR322は、ちょうど大腸菌のまた1000分の1のレベルで、いろいろなウィルスやファージは、その間の100分の1とか10分の1に位置している。

このようにいろいろな生物種によって染色体DNAの容量のほか、それぞれの質的な違い、ことに情報発現のときの仕組が異なっている。このようにDNAは全くの情報担体であることだけが仕事であり、実際にその中身の情報内容が細胞の中で働き出すためには、必ずそれがRNAに転換され、さらにたん白をつくるときには、そのRNAからたん白質のペプチドをつくる。これは、いわば地球生物の根源になる生命の原理で、いまのところこれを破る生物種は出ていない。

遺伝子組換えとその手法の発達

ところで、われわれヒトでは、父親と母親がある場合にはガメート(配偶子)がそれぞれ存在し、そのガメートの両方が一緒になって一つの個体(ジプロイド)を形成し、そのジプロイドからまたガメート、つまりハプロイドができる段階が、いわゆる減数分裂と呼ばれる。この減数分裂のときに相互にする相同の染色体の間で組換えが起こる。それは、いうならば Homologous Reciprocal Recombination (相同性相互組換え) で、この現象は、すでにもう何十年前

に確認されている。

ただ、このような現象が塩基配列の上でもはっきりと確認できたのは最近のことで、それはとりもなおさず、組換えDNA手法とDNA塩基配列決法が完成して、その結果、いろいろなことが改めて明確になったわけである。

ところが、15年、あるいは20年ほど前から、そういう全くの相同染色体同志でなくとも、つまり不同等であるが、相同領域があればたとえばIBDEというのに対してGBDHと、BDのところの相同性があるような場合にも同じような相同性の組換えが起こることが認められた。

そしてまた、遺伝子変換という現象も見つけられた。これは、いままでのがいうならばレシプロカル(相互的)に変換していたのに較べると、一方の情報がそのまま相手に移ってしまう。これ、ことに酵母やカビ、あるいは最近は大腸菌の場合にも認められている。

そういった相同性のある領域を利用して、Gene Replacement — 遺伝子の入れ替え技術、あるいはこの2つの交叉点による組換えと同時に1つの交叉点による組換えも起り得て、相同性を利用した組換えは生体内で彼らに起こさせる手法が最近は非常に利用されてきて来ている。そういった手法で育種上に非常に大きな貢献をしたものの一つに、枯草菌系統のアミラーゼの増強の研究があげられる。実際にアミラーゼの力価で最初は10ユニットであったのが3万ユニット、実に3,000倍の増強をすることに成功している。

その場合に、たん白質の性質もいろいろ変わり、同時に、amy R1、amy R2、3という遺伝情報の発現をコントロールする、いわゆる制御遺伝子の部分が変わってきている。私のところにこの問題がきてから、amy R3の塩基配列を求めたところ、amy R1とamy R3の間では、そのプロモーター部分でわずか一つの塩基が置換しているにすぎないことがわかり、現在その部分を部位指定変異(Site Directed Mutagenesis)で確かめている。

いま一つ、Bacillus subtilisに関する育種上の非常に興味ある結果として、ツニカマイシンという抗生剤に対する耐性菌を利用した遺伝子の増強の例がある。これは、従来の多コピープラスミド、マルチコピープラスミドを用いる手法と異なり、染色体の上で多くの塩基配列の繰返しをつくるという意味で非常に画期的なもので、将来はいろいろな他の有用な微生物においても利用されるものではないかと考えられる。

そのほかSite Specific Recombination(部位特異的組換え)は、相同性はあ

るにしても、非常に小さい、わずか12塩基とか、15塩基という短い相同性の中で特殊の酵素が働いて組換えが起こるものである。次に、Transposon という俗に「Jumping Gene (跳ぶ遺伝子)」と呼ばれる現象がある。この現象自体は、30年以上前にトウモロコシの例で指摘されていたが、それが実際にバクテリアにおいて遺伝子が挿入あるいは離脱という現象がはっきり確かめられ、むしろ全生物にこのような組換えが起こっていることが現在知られている。

そのほか、2つのDNA塩基配列の間に相同性は全く認められない、つまり Non-Specific Recombination、そういうようなケースでも、その間に組換えがあり得る。

なぜそういうものを持っているかということはいささか難しい問題であるが、もともと生物が地球上で生きていくために、それ相応の防御手段、たとえば宇宙線にしろ紫外線にしろ、DNAに傷を与える環境中で傷のついたDNAを常に修復する能力を持っていたからこそ、われわれ生物はいままで連続として35億年の間生きてきた。また、その組換え能があったために、長大な35億年の間に生物の進化が進んできたというふうに考えることができよう。

プラスミドの遺伝子交換能

以上のように組換え能も、いろいろなものがあるが、その中でも、Transpositionに代表される Mobile Genetic Element (可動遺伝子)の発見は、ある意味では、われわれの従来の遺伝、あるいは遺伝情報の概念を全く根底から変えさせたということができよう。

そのような Transposon のいろいろな働き方として、Transposition (転位)、Excision (切除)、Cointegration (組込み)、Deletion (欠損)、Inversion (逆位)、Resolution (解離)とさまざまな形式を持ちながら、遺伝子相互間、あるいはレプリコン相互間で組換えが起こるということである。そのような遺伝子の交換は単に同種の間だけではなく、私たちの場合にもいろいろなウィルスがわれわれのDNAの中に飛び込む現象がみられるが、一番よく引かれる例として、また応用上重要なものとして、Ti プラスミド (tumour more inducing plasmid) というものがある。

Agrobacterium tumefaciens という植物病原菌があり、それが植物の傷から侵入すると、不定芽とか、不定根、そして細胞組織が異常に増殖する「Crown gall」現象が認められる。この菌が、その病原性を示すためにはTi プラスミド

というものを持っていなければならない。そのTiプラスミドのある部分だけが植物の細胞の核の中に導入されて染色体DNAに組み込まれた結果、異常な発育、主に植物ホルモンの異常バランスを引き起こす。これは現在、植物に外から遺伝子を与える手法の一つとして非常に注目されている。

この現象は、従来はこのTiプラスミド、あるいは同属のRiプラスミドに限られた現象であるというのが、少なくとも昨年までの見解であった。ところが、昨年、Dr. Cannonの一派が必ずしもTiプラスミドでなくて、普通のバクテリアの間で動き回る広宿主域プラスミドでも侵入することができることを発見している。これは、実際に自然界での動植物間、微生物間の中では潜在的なものを含めると、いろいろな遺伝子交換がかなり行われていることを信じさせるものである。

もう一つ、プラスミド重要な役目がある。たとえば、ナイロンのモノマー、あるいはダイマーを分解する酵素が、バクテリアによってつくられるようになった。つまり、これは30数年前では、ナイロンそのものが人工的な産物であり、これを分解する能力はバクテリアといえども持っていなかった。ところが、そのような人工産物を人間がどんどん作り出すに及んで、それに対する分解酵素を生産する、それを分解する適用菌が生まれてきたということで、そのようないわば酵素の進化というものも、このプラスミドの上で非常によく行われている。つまり、染色体は、細胞の維持、生活にとって非常に重要なものを含んでおり、特にバクテリアのような場合には、きわめてコンパクトにそれが収納されているため、たとえばナイロンを分解するような、いわば余分な酵素をその上で進化させていく余裕はあまりない。それを、プラスミドを持つことによって、プラスミドのいろいろ塩基配列を改変する、あるいは組換えるようなことで、新しい酵素が進化して生じてきたというふうに考えられる。

そのほかの例として、私どもおよび和田教授との共同で、10年間BHCを投与した植木鉢の土壌から、BHCを分解する菌を拾うことができた。その菌の遺伝情報を求めたところ、やはりプラスミド上にあるらしい。その分解遺伝子情報を求めて、最初にBHCから始まり、脱塩基したまでの酵素系の遺伝子のクローンに成功している。それから後はおそらく別の誘導機構、あるいは別のシステムによって誘導されると考えている。これは直接食品とは関係ないが、やはり農薬の汚染を除去しようという場合には、どうしても自然界へのこういう組換え生物を放出することが最終的にないと、実際の応用として汚染分物質

の分解・除去には使えないことになろう。

DNA組換えと社会的認知

先ほどから組換えのことに重点を置いて話をしたが、むしろ点変異 (Point Mutation) — 塩基1つの置換というものが、いわゆる変異株をつくる場合に一つの目標になっていた。しかしその場合、たとえばX線、 γ 線あるいは化学変異原を使っても、どこにその点変異が入るかということは全く予知できない。ところが現在は、いわゆる Site Directed Mutagenesis という手法が開発されている。M13のファージを使い、一つの変異をあらかじめ合成したヌークレオタイドに入れておく。そして、これは一本鎖ファージDNAから二本鎖ファージDNAをつくる段階を利用するわけで、ある求めた特定の点の塩基を換えることも可能になってきた。

ところで、組換えDNA手法が世に発表されたのは1972年であり、15年以上前のことで、Dr. Berg たちは非常に複雑な手順で、いろいろな酵素を使って両端を揃えて、それをまた一緒にして連結するという非常に手のかかる手法で、初めて組換えDNAのプラスミドをつくった。

ところが、同時にその頃進行していたいわゆる DNA Restriction Enzyme (制限酵素) の性格がはっきりするに及んで、容易にDNAをあたかも鋏で切って編集するような手法で進めることができるようになった。

その最も初期というか、現在でも用いられているショットガン実験は、弾が散ってどこに当たるかわからないけれど確実に当たるといった手法で、したがってそこで得たいろいろなベクターにつないだものの中には、一体どんなDNAがそこに組み込まれたかわからない、という非常に不確定要素の多い手法である。

これが非常に一般的な危惧と恐れを呼び起こして、果たして潜在性の癌遺伝子を拾うことがないのかとか、そのほか、非病原菌になることはないのかというような心配が中心になって、社会的な反響も呼び起こしたのである。

一番最初は、DNA形質転換だけで、そのほかいろいろな方法ができて、電位差をかけて入れることができて、現在ではどんな細胞でも、条件検討さえすれば必ずDNAを入れることができる。

そのように非常に簡単なDNAの組換え手法が発表されたのが、1973年のアメリカのGordon会議である。1973年6月にその報告がされ、これからはど

んなDNAでもつなぎ換えることができると、非常にショッキングな知識を得たわけである。

そのときにコ・チェアマンであったDr. Maxine SingerとDr. Dieter Soll, 特にDr. Maxine Singerが熱心に主張されて、ゴールドン・コンフェレンスの終わりのときにミーティングを持ち、約130名の出席中90名の方が集まっている。そこで論議されたのは、この重大な発見に対してアメリカの科学アカデミーは速やかにいろいろ調査をすべきである。その要請を科学アカデミーの総裁に出そうということで、これは78対12という大差で決定した。

ところが、その手紙を同時に『SCIENCE』あるいは『NATURE』という科学雑誌に投稿しようという第二の発議が出され、これは48対42というわずかに6票差で通り、実際に1973年『SCIENCE』誌上に掲載された。その後、1974年同誌にいわゆる「バーグの手紙(Berg's Letter)」が発表された。

これの要点はいろいろとしても、このような新しい知見に鑑みて、しばらくの間、もっとよくその性格がわかるまでは、ある種の実験をモラトリアム(中止)しようという提案。さらに、大事なところとして、「このことに関する国際コンフェレンスを早急に集めよう」というわけで、それがいわゆる第二次アンシュローマ会議へとつながった。

ところが、このような手紙が出るに及んで、一般のジャーナリズムが非常に大きく働き、中には全くSF(Science Fiction)あるいはそれにもならないような論調さえ出てき、さらにいろいろな論争がアメリカで行われた。その中でも一番著名なのは、Massachusetts州Cambridge市における論争で、それは当時のVellucci市長が「Harvard大学、あるいはMITにおけるこの種の実験を全部中止すべきだ」という動議を市議会に出され、その後同市長よりNational Academy of Scienceの総裁のHandler氏に公開質問状が出されている。それは何をいうかという、「マサチューセッツのドーバーという町で、strange orange-eyed creature of ……」、要するにそういう奇妙な生物体が見つかったと。またもう一つ、「ニューハンプシャー州のホリーで9本の足を持ったクリエーターを見つけた。これは最近における遺伝子組換えDNA実験と何らかの関係があるかもしれないから、それを調査してくれ」と。現実には、先ほど冒頭にちょっと申しましたように、組換えDNA実験をすることだけによって、何か非常に危険な、あるいはとっぴもない微生物ができるという概念がいまだ日本に存在していることは事実である。本当に科学的に処理して、

科学的にそれを判断し、処置していく姿勢がなかなか難しいものであることをこの事件は物語っている。

ところで、先ほど紹介したDr. M. Singerが、1979年にイギリスで開かれた第2回コンフェレンスで、座長としての発言として先ほどの1973年に自分のやったことを省みられまして、「そのときコ・チェアマンに選ばれたことは非常に名誉に感じた。で、コンフェレンスを待ちわびていた。ところが、現在振り返ってみると、それは私のいままでの生活の中で最も悪いことのひとつであった」というふうに述べている。

彼女は、ある意味では非常に積極的に、いわゆる公開質問状を出すことに努力したわけで、実際に後になって素直にそのやり方が悪かったということをおられる。こういうような考え方をできるだけいろいろな、少なくともアカデミックな立場におられる方は、素直に証言していただきたいものだと思っている。

昨年7月にアメリカのNational Academy of Scienceで報告書が発表された。これは先ほどちょっと出た「バーグの報告書」に次いで2番目のもので、その間、もうすでに15年は経っているが、改めてこの組換えDNAの性格をきちんと調査した報告書である。

最も重要な結論として、「組換えDNAの技術の利用や非類縁生物間での遺伝子の移動に、特有の危険性があるという証拠はない。組換えDNA操作生物の導入に伴うリスクは、改変されない生物、あるいは他の方法で改変された生物の導入に伴うリスクと同種のものである。組換えDNA操作生物の環境導入のリスクと評価は、生物の性質及びそれが導入される環境に基づいて行われるべきであり、これがつくられた方法によるべきでない。

組換えDNA技術は、生物改良のための有力、かつ安全な新手段である。遺伝的に改良した生物は、健康管理、農業効率、および農業や産業における化学物質への過度の依存に由来する多くの環境問題の改善に大いに貢献すると考えられる。

組換えDNA改変生物の時宜を得た開発と合理的な導入は、正しい環境管理を損なうことなく、新技術の導入を刺激する健全な規制政策の作成に依存している。

研究者および規制者に対し、改変生物の計画的導入を生態学的見地から評価する手引を与えることが、科学界の急務である」。

これは、自然界への組換えDNA生物の放出についての考え方で、同時にこれはすべてのことにつながると思われる。

この報告書の中心点は、カテゴリゼーション — いろいろな問題を全部一把ひとからげに考えるのはよそう。それぞれのケース・バイ・ケースでカテゴリを決めて、きわめて安全度の高い、全く危険性のないものと、注意をしなければいけないものとはっきり区別するべきである、ということ述べている。

エイズウィルスがあるいは変異体で出現したかもしれないということと、ハイブリッド・コーン（収穫率の高いトウモロコシ）を創り出すことと、全く同じ同一のレベルで論じているのがいまの反対派の現状ではないか。

乳酸菌や枯草菌、あるいは酵母のケース、これはもう何千年もの昔から人間が食品の製造に用いてきた実績のあるものであり、これを先ほどのエイズと同じような考え方、あるいは病原菌、いわゆる有名な、すでに病原性があると認められているようなものと同一に断ずることはばかげた話であると、私は信じている。

一方、極端な例として、われわれが伝統的に使って *Aspergillus oryzae* に非常によく似たものに *Aspergillus flavus* というものがあり、これは有名な癌発生剤であるアフラトキシンの生産菌で知られている。

しかし、当初は、このアフラトキシン生産菌のフラバスとオリゼとの間に分類上のいろいろな論争があり、現在では「アメリカのストック・カルチャーが正しくなかった」という日本の主張が通り、フラバスとオリゼは全く違うものであり、かつ実際に *flavus* の生活環はわれわれのオリゼとは違っていることが認められている。

そのような食品に関与する糸状菌（モールド）であるが、一般的に、バクテリアや酵母に較べると、この新しい組換えDNAはまだほとんど開発されておらず、やっと昨年、あるいは一昨年あたりからその端緒が見えて来たところである。日本の代表的なコウジ菌であるアスペルギルス・オリゼは、醸造試験所の方々がすでにいろいろ手がけており、*Mucor* では、別府先生のところでいろいろ酵素のクローニングもされている。私どものところでは、*Rhizopus niveus* — 東南アジアで非常によく使う食品加工上の生物 — というカビから、これの酵素をすでに4種類クローニングして、またそれに対する宿主ベクター系 — リゾープス自体を宿主とするベクター系を現在開発中である。

おわりに

地球生物というものは、いろいろ根源をたどると、同一の祖先を持っていたに違いない。したがって、生命原理というものは共通性がある。

しかし、その共通性をあまりにも重視したために、つまりアッシュローマ会議などでも共通性を重視したために、ヒトと大腸菌との間に全く同じ仕組みが働いて何かトラブルが起こるのではないか、組換えDNAによって非常に災害が起こるのではないかという予想が出されたが、実際には35億年の間に住み分けてきた。その間に、生命現象の多様性というものがはっきりと打ち出されて、現在、われわれはある遺伝情報のある宿主細胞で発現させるにはどうすればいいか、どのようにしてそれを制御するか、あるいはその情報をどのようにして保持していくかということがむしろ課題になっている。

地球生物そのものは、いろいろな環境もあり、まず外側の環境に影響される。同時に、生物の本質的な働きを破ることは不可能である。生物であるためには、あくまでも自分がちゃんと生きていく性質を取ってまでの改造は行えない。つまり、新しい生物をクリエイト（創造）するのではなく、モディフィケーション（改変）し、その生物にいままで持っていなかった性格を、われわれは与えるのである。それを与える生物が、古来、食品製造に用いられたものであり、さらにその安全性が確立している場合には、エイズウィルスと比較することは全くナンセンスであるということを最後に申し上げたい。

米国における新技術

利用食品の考え方



Maryanski, J.H.

食品バイオテクノロジーの分野における活動と取り組み

食品バイオテクノロジー分野における新しい活動に関する調査が1987年に行われた。この結果は「食品バイオテクノロジーの今日と未来」というタイトルでとりまとめられている。調査対象は大学、業界および官庁の専門家である。それらから、155社が関心を持っており、バイオテクノロジーの研究開発プログラムが全部で400ほど数えられた。開発された食品類としては、改良された酪農製品、酵素、着色料の成分に加えて、動物の発育や栄養の分野に関する製品などである。具体的には、グレープフルーツの苦みを除去する研究とか、害虫や除草剤への耐性を持った植物の開発がそのよい例である。特に栄養の分野は将来重要な焦点となろう。すなわち、作物のたん白含量を高めたり、大豆のメチオン含有率を向上させるなど。それに対して農作物の収量の増加は、複雑な遺伝経路が関与するので、将来的な検討課題である。

これらの中で初めて商品化された食品加工用酵素、食品香料、着色料のように、新食品といっても既存の食品を修飾したものであって本当の意味でのいままでなかったという食品は出てきていない。したがって、この種の食品は、本当の意味での新しい食品と、少し変えただけの2つの間を区別することが大事である。新しい食品の例をあげる。

一つは *thianmatine* という植物たん白がある。これはアフリカ土着の植物を原

米国食品・薬品庁、
バイオテクノロジーコーディネーター

Prospects for the Safety Evaluation of Foods in the U.S.A. in Connection with Biotechnology

JAMES H. MARYANSKI Ph.D.,
BIOTECHNOLOGY COORDINATOR, CENTER
FOR FOOD SAFETY AND APPLIED
NUTRITION, FDA
WASHINGTON, DC, U.S.A

料とし、食品香料の増強剤か甘味料としての用途がある。この植物遺伝子の完全な配列を *Streptococcus lactis* にクローニングして生産している。これは米国ではいままで使われたことがない。

次にイソニュークリエイション・プロテインがある。それを産生する *Pseudomonas syringae* の遺伝子をイチゴの DNA に挿入することによって、耐霜特性を付加させたものである。

このような新しい食品が製品化される時期については 1990 年ごろ活発になるといわれる、つまりあと 2~3 年ということである。

いずれにせよこの調査の結果として、食品バイオテクノロジーの分野において新しい方法を用いて生産された食品成分は、今までのところ多くの場合、本当の意味でのまったく新規の物質というものはないということである。

食品バイオテクノロジーと FDA

FDA が食品を規制する基本となる法令が Federal Food, Drug and Cosmetic Act である。これによりわれわれは一般大衆の健康保全に最も重要な食品の規制を科学的情報に基づいて行いたいと考えている。また、これにより新しい技術を推進することも重要な課題であり、またその国際協力の推進もある。先述のように、われわれは食品の製法そのものを規制し、取り締まるのではなくて、担っている最も重要な責任というのは安全かつ健全な食品の供給にある。

そのような意味から、その生物学的プロセスによって生産される食品と食品成分がきわめて多様であることをふまえて、FDA はバイオテクノロジーを広義にとらえている。

1986 年 6 月に米国政府はバイオテクノロジーに関する一般方針を打ち出している。その方針の検討家庭でわれわれ FDA においては、既存の法律を慎重に検討した結果、得られた結論は、「この分野における規制、取締りのための新たな法とか規制を設ける必要はない」ということであった。

米国では食品の安全性を実証するのは、制定法に基づいて製造者の責任と負担において行われている。従来製の製法に基づいて作られた食品について、FDA は十分な経験を持っている。食品バイオテクノロジーによって作られた新しい食品についても、これらの経験が有効に働くことであろう。

FDA が食品の規制、取締りを行う基本は 2 つある。1 つはその食品自体の成分について、もう 1 つは人為的に加えられた物質に対してである。前者の場合

合はそれが有害であることを、そして後者の場合それが害を与えるかも知れないことを法廷で実証しなければならないのである。今までの訴訟のほとんどは食品添加物についてであった。食品バイオテクノロジーを用いて作られた新しい食品についても、有害の疑いがある場合、FDAはこの条例を基に行動をおこすことができる。食品に元来含有されている成分であっても、それが何らかの加工処理によって本来あるとされる量よりも増加した場合、増加した量は添加物と見なされることになる。

米国では添加物についてGRASという制度がある。GRASと認定された物質は発売前の承認義務すなわち、特に安全性実証の義務から免れている。GRASに認定されるためには、安全性に関する十分な科学的裏付けがあり、かつ1958年以前にそれが安全に使用されていたという過去の証拠が必要となる。

FDAのバイオテクノロジー、食品添加物、GRASに対する考え方

バイオテクノロジーに関する質問として多いのは、何時FDAから新しい認可をとる必要があるかということである。すなわち、すでに市場にある製品を新しい製法でつくった場合、再びFDAの許可を要するかということである。これに対しFDAとしては、製法が変わった場合はそれを知っておく必要がある。製法が変われば成分も以前のものと同じではないと思われるし、さらに大きな問題としては、製法により今まで存在しなかった不純物が生ずる可能性が考えられる。

食品添加物の規程にはその性質や、満たすべき規格や基準が記載してある。しかし製法については触れられていない。製法については企業秘密と考えられるためである。したがって製品はメーカーの責任において、FDAの規程を満たすことを確認する義務があることになる。

GRASは食品添加物と比較して、その定義や規格等がずっと緩やかである。既にGRASとされる物質は、普通天然の物質であって、1958年以前からの方法で製造されていたものである。FDAはGRASに関して、その製品に新しい製法あるいは育種等によって相当の変更が加わっていた場合、それをチェックする権限を有している。GRAS物であってもそれがバイオテクノロジーによる新しい製法で製造された場合は、当然チェックし再検討するつもりである。その際は従来の製品に対して用いられたと同じ基準が適用される。われわれが特に興味を持つ点は従来なかった不純物の存在や食物として摂取された場

合の曝露のレベルに変化があったかどうかといった、化学物質としての同一性の問題である。相当な変化があったと考えた場合、GRASと認定する場合もあるし、またGRASでなく食品添加物と考えて販売前の許可が義務づけられることもある。普通これらの安全性の根拠となるのは発表文献である。

食品に対するFDAの見解

FDAの定義、すなわち食品は食品であり、それに添加されたものは食品添加物であるとすれば、豆腐は食品であるが、これをスープに添加すれば食品添加物となる。しかし、豆腐は何世紀も安全に食されてきたものである。したがって米国の食品法によれば、GRASに当たることになる。これはわれわれが食べているものについてほとんどいえるわけで、われわれは試行錯誤の結果、安全だということを認識している。

食品に関する基本的問題というのは、ある食品が今日でもなお一般的に安全であるかを認識し得るかどうかにある。米国の法律では食品に関しては、発売前の許可を必要としない。一方、FDAは法律に基づいた大きな権限を有しており、たとえ食品であっても毒性を示すものに対してのアクションをとることができる。このようにどのような食品や食品成分について許可の取得が必要かを具体的に規定することはできない。あくまでもそれが毒性を示すかどうかで取り扱いが異なるのである。

バイオテクノロジーによって作られた食品の安全性評価

バイオテクノロジー製品の最初の段階における安全性評価において、最も中核的役割を果たすのが微生物学的検討である。FDAが重視しているポイントをあげると次のとおりである。まず①生産工程で用いる宿主細胞とその遺伝情報の由来となった細胞、すなわち両方の微生物の性質。②挿入されたクローン化DNAとベクターについての詳細な情報、③隣接領域といわれる発現されていない部分のDNA領域、すなわち目的とする遺伝子の発現機能がそこで変化しないかどうか、④そのほか発酵に用いる株の問題は従来のもと同じである。たとえば、培養細胞そのものが純粋であって有害物による汚染がないこと、遺伝的に安定であること、抗生物質を産生しないこと、毒素を産生せず、病原性を持たないことなど。今日、大腸菌を食品加工に用いることが提案されているが、その菌株が腸内毒素を産生しないとのチェックが重要である。通常、何種

類かのテストによって確認される。これにはイヌなどを使った短期の実験があり、また *in vitro* の実験もある。

このように安全性に関する問題の多くは、最初の微生物学的検討によって答えが出るとはいえ、それ以外の検討も重要である。たとえば化学的検討とか、環境、毒性学、栄養などである。たとえば、環境の検討はその製品が環境にどのような影響を与え得るかということで、バイオテクノロジーにおいては特に重要である。FDAにはまた別の、すなわちNEPAと呼ばれる法律があり、メーカーが食品添加物とか着色料またはGRASなどに関しての承認申請を行う際に適用される。

そのほか、食品成分に関しての毒性試験のガイドラインがFDAから発表されている。化学的検討には、製品の同一性固定試験、規格試験、さらに曝露レベル、摂取量も入ってくる。

Novel Foods の安全性評価

新規の食品とは、食事の中で大量に摂食されること、また過去に食物として供されることがなかった新しい物質であること、さらに既存の食品を少し変更しただけでなく、それ以上の変更があったものである必要がある。たとえば、アスパルテームがこれに相当する。この新規の食品に関しての安全性の評価は、規制サイドもまた科学専門家にもむつかしい問題がある。

しかしながら、この新規の食品についても、やはり順序を追って段階的に評価して育てていくことが重要である。まずその遺伝学的な検討、そして何らかの微生物をベクターとして用いているのであれば、化学的分析を行う。これらの情報に基づいて適切な生物学的実験を行う。

食品そのものに関しての動物実験は非常に困難である。たとえば、ラットにトマトを大量に食べさせることは栄養のバランスを崩すという問題が発生する。そして何か悪影響が出た場合に、原因がその検討の対象になっている新規の食品の毒性にあるのか、それとも栄養のバランスが崩れたためなのかの判断がむつかしい。

その意味からも新規の食品に関しては、その試験のやり方を慎重に考える必要がある。しかし、もし大量に摂取されるような食品の場合には、あらゆる生物学的な検討が重要視される。たとえば長期曝露実験、生殖試験、催奇形成、免疫系とか行動に与える影響など。このような慎重な段階を追ったアプローチ

というのは、食品成分の場合と同じで、これは国連の Protein Calorie Advisory Group がだしているガイドラインにも、きわめて近いものである。

以上のように、バイオテクノロジーに関する毒性試験についての FDA の考え方を要約すると、やはり微生物学的な検討が重要であると考えている。そのような情報と化学分析の結果を組み合わせることによって、その後のテストをどの方法で行うかが決定される。新規の食品および食品成分については、非常に厳しい毒性試験が要求される場合がある。すなわち、使用した微生物に毒性が認められた場合とか、微生物学的あるいは遺伝学的な検討で十分な答えが出なかった場合には、毒性試験をさらに追加する必要があることがある。たとえば、アスパルテームは、数多くの毒性試験が要求された。また最近ではチーズ酵素、カイモシンについてその申請文書の検討は十分に終了した段階ではなく、したがってメーカーに対しては短期の動物試験を要求しただけである。このように、その製品の内容により要求される試験の内容も変わってくることになる。

おわりに

ナショナルアカデミーのバイオテクノロジーに関する報告書の結論は、大変興味深いものがあるので引用したい。

まず、組換え遺伝子を用いたために、または遺伝子に関連のない生物の間で動かしただけのために、生じる害があるという根拠はないこと。遺伝子組換え生物を導入することに関連するリスクは、そのような遺伝子の修飾を行わない生物や、DNA 組換え以外の方法で修飾をした生物を導入した場合に関連して起こってくるリスクと全く同じ種類のものである。

DNA 組換え法によって得られた微生物を導入する際の環境に与えるリスクの評価の基礎になるのはその生物の性質の検討であり、そしてそれが使われる環境の検討であるべきであって、それをどのような方法で製造したかによるものであってはならない。

そしてこの報告書の要約で、もう一つの FDA のポリシーを端的に表明するものがあるので次に掲げる。

『DNA 組換え法によって得られる、遺伝子工学的な方法の可能性としてのメリットを実現するために、われわれはその技術革新の推進力と逆に、そういうバランスをとるためにはやはり経験の蓄積、そして科学的に広範な知識がきわめて重要である。また、生態学的な問題を生ずる可能性を持った微生物、技

術、そういうものとの区別を行う判断力が重要である。』

要約すれば、FDAはバイオテクノロジーによる製品に関しても、既存の制定法および規制を用いてケース・バイ・ケースに、その製品の性格を配慮しながらまたその製品がどのような使用目的かということ considering ながらその取締りを行うということである。

食品行政における新技術

利用食品の位置づけ

稲葉 博



はじめに

厚生省では、既に医薬品の分野について「組換えDNA技術応用薬品の製造のための指針(案)」を公表しており、そういう医薬品の分野に較べると、食品の分野は一步も二歩も遅れているというのが現状である。しかしながらバイオテクノロジー技術は、将来の食品産業を支える有望な先端技術となり、食品の素材、食品添加物、製造工程の革新、さらには各種のバイオ作物などをつくることなどへの利用が大いに期待されている。

そういうことを考えながら、食品行政との関連について、このような技術を利用した食品について、現在の考え方やガイドライン等の検討状況について、食品衛生法の目的をふまえながらお話をさせていただく。

食品衛生法と食品の動向

食品衛生法の目的を皆様方にご理解を賜りたい。法の目的は、われわれの口に入るもの、そういうものを公衆衛生の観点からいろいろ管理をして、公衆衛生の向上および増進に寄与することが目的であり、その方法として規格基準の設定、表示の基準などの内容があるわけである。

食品にかかわる安全性、衛生性を確認をしてゆくということに関して食品産業の現状を見ると、食品の加工技術の進歩がきわめて目覚ましく、従来の食品衛生法の枠の中で単純に当てはめていくことが徐々に難しくなっているこ

厚生省生活衛生局食品保健課
新開発食品対策室長

**Position of Foods Made by Novel
Technologies in Food Administration**
Dr. HIROSHI INABA
HEAD OF OFFICE OF HEALTH POLICY ON
NEWLY DEVELOPMENT FOODS
MINISTRY OF HEALTH AND WELFARE

とが現実だろうと思われる。その背景には、一般の消費者の方々の食品に対するいろいろなニーズ、またサービスの提供がきわめて多様化してきており、それらに対する提供する側のレスポンスがあるというように考えることができるだろうと思われる。

たとえば、日本人が摂取をする一人一日当たりの熱量の平均は、石油危機があった昭和45年に2,529 kcalとなり、これ以後はほぼ横ばいである。その中において、飲食費支出が実質価格で年率1.6%の伸びを示しており、カロリー当たりの飲食費の単価が一人一日当たり1.5%増加している。

それと家計調査での飲食費支出に占める加工食品、外食の割合は、昭和30年にはそれぞれ38%強、4%強であったものが、昭和60年には45%と16%になっている。これはここ20年、厚生省での毎年の国民栄養調査でも栄養調査をした各家庭のレベルで、約40~50%は加工食品を利用しているという現状と一致するものといえよう。

もう一つ、日本はいま人口の高齢化を迎えており、世界でもトップレベルの平均寿命をもっている。ところが、昭和23年の65歳の方があと何年生きられるか、昭和60年の65歳の方があと何年生きられるかというのをみても、3年ちょっとしか伸びていない。

その間にわが国の平均寿命の延長に与えてきた主な影響は、医学、医術の進歩というよりは、医学、医術の技術が人間に対して施されたときに、それに十分レスポンスし得る体力の向上があったからこそといえよう。

その意味で、食料、食品というのは私たちのこれからの健康を考えていく上できわめて重要なファクターであろう。最近の動きとして、「健康にいい」という表示をすると、食べ物がきわめてよく売れるということがあり、疾病構造の変化に伴って、一般の方々の食品、食事に対する考え方や気くばりの目覚ましい変化がある。

食品へのバイオテクノロジーの導入の利点と欠点

食品に対する趣向としては、高付加価値の高級食品で、しかも少量で、多品目を消費する方向にある。ここでいう高付加価値というのは、いわゆる健康指向にきわめて深い関係があると思われる。

一方では人口そのものが頭打ちを背景に、食べ物の量をたくさん売ってという時代から、限られた枠の中で食品そのものを消費者にどのように利用してい

ただかということに方向が向いてくるわけで、そのようになると、生産効率を上げるとか、高付加価値のところへ消費者の目が向けられるという要素の上での食べ物の出回りがあるわけである。そうすると、食品分野のバイオテクノロジー技術の導入が急速に図られることが予想される。

そういう中であって、バイオテクノロジー導入の利点は種々あげられるが、特にグローバルな意味では、食糧危機に対して農作物の増産にもきわめて利点があるだろうと考えられる。さらには、新しい食品を創り出すという面もある。

一方、欠点として以下の点があげられる。既存の有毒物を増加させないのか。われわれの気のつかない新しい有毒物を生成しないのだろうか。そういうバイオテクノロジーでつくられた新しい微生物による食品および環境汚染はどうか。栄養成分の変化はないのか。さらには新しい品種の遺伝的な安定性というものはどうか。また、たとえばカルス栽培でいえば、溶液内の成分によるカルス成分の変化はどうか。

これは食品衛生という点からみて、従来の衛生というところで担保している範囲を少し幅広くとらえていかないと、対応が困難な面が出始めることになる。

たとえばγ-リノレン酸の糸状菌培養に対する安全性をどう扱っていくのか。さらには、栽培原料を食品加工していく際に、栽培されたところに加えられたりした一定の物質なり何なりを、高濃度に濃縮することがあるのかなのか、またそういう食品はどのように扱うべきなのかという問題が出てくる。

そういう食品を扱う安全衛生の問題から、高付加価値を含めた健康との関連において、「食品保健」という言葉を私たちは使い始めている。すなわち、従来の安全性に対する考え方に加えて、新しい安全性の考え方を導入しなければならないというように変わってきているわけである。大量の有害もしくは有毒物をいかに排除するかという基本的なところに加えて、例えば一つ一つの化学物質に対する安全性として、相乗効果はないのか、逆にいうと相殺効果で安全だということはいえないのかと。一方で、そういう評価技術をわれわれは持っていないのが現状である。

食品分野で用いられるバイオテクノロジーの問題点

遺伝子組換えによってでき上がってきたリコンビナントを使って、原料から発酵工程、精製工程を経て製品になるわけですが、こういうところでリコンビ

ナントを利用する際にどういう問題点が生ずるのか。発酵における衛生性の問題、汚染物質の混入の問題という部分で申し上げますと、精製の不備という問題がある以上は、リコンビナントそのものは摂食されないわけだが、たとえばみそとかしょうゆで使われる場合には、リコンビナントそのものを食べてしまうので、そういう問題はどうか。しかも、このリコンビナントの組換体の安全性はどうか。新しい有毒成分なり新成分の中に毒性成分はないのか。予期しない代謝物が生成されるのではないのか。さらには、きわめてわずかな含有する有毒成分が逆に増えているのではないのか。そういういろいろな問題がある。

そういうことを踏まえて、安全、衛生の観点から対応策として考えられることは、概論的に申し上げますと、天然物とバイオテクノロジーを用いたものとの化学的同一性の確認、生物的安全性の評価、遺伝子の固定化の確認、宿主ベクター系などのもろもろの性質の解明とかいうものが整備されてこなければならぬ。そういうことで、厚生省では、昭和61年から研究班を設けて検討を続けている。

厚生省における検討と対応の考え方

「組換えDNA技術を応用した食品等の安全性および衛生確保の考え方」の中に、組換体等、利用目的、衛生確保の要件、食品等の区分、製品の安全性評価の基本が掲げられている。当初、厚生省ではバイオテクノロジーというものを一括して議論を進めていたが、それがどのようなものを意図してつくられてくるかということをもまず分けておかないと整理がつかないということで、そこから検討をとりすすめた。

組換えDNA技術を応用して、いわゆる既存の原材料、製造工程等も含めて、既存と同じ物質を効率よく生産するためにリコンビナントを使用する場合—アミノ酸、酵素、ビタミン、有機酸、糖類が入るが—には、過去の積み上げ、従来の食品衛生法を担保する意味で積み上げてきた化学的な技術の評価が役に立つだろう。こういう考え方で、単一の物質として利用し、かつ既存と同一の物質をつくるというものについては、安全性評価の基本としては、概念的には既存の原材料、製造工程等との比較による総合的な評価を行い、既存の物質との同一性の確認、物理学的な性状、化学的な性状、また不純物がないことを確認すれば問題はないであろうと考えられる。

さらに、単一の物質として利用されるものであって、しかも新規の物質、いままでに全くないもの、新しい構造機能を持つたん白とかについての安全性評価を検討中である。

また、単一の物質以外、みそやしょうゆのように組換体そのものも一緒に食べてしまうようなものについて、現在、併せて安全性評価を検討している。

単一の物質として利用する既存と同一の物質に対するリコンビナントの取り扱い等については、現在、最終案がまとまりつつあり、その内容について一部業界の方々からご意見をいただいて、その最終調整を図っているところであり、近々ガイドラインとして出されるのではないかと考えている。ここで考えられなければいけないファクターとして、既存と同一の物質をつくるということであっても、製造段階における衛生確保の要件としては、GILSPまたはカテゴリー1、2、3の食品について用いることはいまのところどうかなということである。組換体等の条件としては、まず非病原性が当然守られるだろうということで、非病原性という枠をはめた上で、製造段階における衛生確保の要件として、GILSPまたはカテゴリー1の施設、設備において、それぞれの区分に従った管理運営を実施する、こういう考え方である。

ちなみに、GILSPまたはカテゴリー1の考え方として、宿主側の要因としては、GILSPまたはカテゴリー1の範囲で、非病原性であることを守ればGILSPの場合はその他の条件が加わるが、この辺でいけるだろうと思われる。

ベクター、供与DNAというものの考え方の条件として、GILSPプラスカテゴリー1、この辺のところまでは用いていただいていたとうとうと。これはすでに通産省等が出しているもので、私どもが十分参考にさせていただいており、考え方の上では整合性がとれているのではないかと考えているが、いろいろな指摘があり、細部について最終段階の検討をしているのが現状である。

新規の物質とか、リコンビナントそのものを食べてしまうものについては、いましばらく時間をいただきたいと、こういう状況である。全く新しい食品、Novel Foodというものについての安全性は、今後いろいろな試験方法、試験の種類を含めて検討することになろうかと思われる。

具体的にそういう問題を検討していくと、ある食品にとって「新しい」-「Novel」という意味がどこに存在するのか製造工程なのか、モノなのか、そういうことも検討されなければならないし、また、既存のものと較べてどの程度新しいのかということにより、検討される内容がきわめて多様化する。そうい

うことをどのように整理するか、一つ概念も合わせて検討していかなければいけないと思われるが、それは今後の課題としてこの検討会の中で詳しく検討することになるだろうと考えるわけである。

ガイドライン設定の考え方

日本の場合、厚生省の食品三課は、食品衛生の流れからすると、結果として健康とのはざまにあり、商品を提供する側の方々から見ると規制というふうな施策に映りやすいし、現実にもそういうものがスタートであったという歴史がある。要は、私どもが考えていることは、こういう新しい技術を一般消費者の方々に受け入れてもらえるような、いわゆるソフトランディングをどのように考えて取り扱っていくかが、きわめて重要な因子として今後出てくるだろうと思われる。

わが国の場合、十数年前、昭和48年に、例の新食品をめぐる大変な事実を経験してきたわけで、そういうことにならないように、バイオテクノロジーの進歩のために一般の方々の支援をいかに得ていくのか、われわれ厚生省としては支援を弱めるようなことにならないような方法論を考えなければいけない。特に食品の場合、口に入ることであるし、しかも医薬品と違って、届出も何も要らず、食品衛生法を守ればどこどこで売ってもよく、そうすると乳幼児も食べる、老人も食べる、病気の方々も召し上がるわけである。

その事実を踏まえた上で、食品の分野としてひとつ調整を図れるようなガイドラインにしていきたい。このガイドラインは、見た目にはどうも規制として映るため、いかにそういう新しいものを食品工業に導入していただけるのか、導入するに当たってはステップを踏んだプロセスを考えなければいけない、そういう形のガイドラインを考えているところである。

そういう受け入れられるものを整備していくに当たっては、人間が生活していく上で、科学技術とわれわれの実生活との融合と調和を図れるような評価方法をどのように開発していくのかと、ここが大きなポイントだろうと考えているわけである。

私どもは以上のような考え方で、バイオテクノロジーの食品に係わるガイドラインの設定に向けていくつもりですが、そういうガイドラインで対応していければ、新しい法律はいまのところ必要ないだろうと考えている。

マリアンスキー氏の講演にもあったように個別にガイドラインに沿った形で

事前に担当部局に相談していただく。そういう行政上の対応の体制づくりを今年の63年度の予算では組まれており、組換えDNAのガイドラインが出た時点で厚生省の相談窓口を含めたそういう体制づくりを早急に詰めて、年度内にお示しすることができるだろう。それによって事前に担当にご相談をいただくような行政上の流れ、システムを検討していくことが併せて今年度から始まることになろう。

「栄 養」

No.	開催日	場 所	出席者(名)
21	4. 28	日本国際生命科学協会	8
22	6. 14	日本国際生命科学協会	6
23	9. 14	日本国際生命科学協会	5
24	10. 26	日本国際生命科学協会	4

内 容

報告書最終原案に関するチェックおよび修正
報告書作成に当たっての図表の選択
七周年記念フォーラムにおける発表要旨の作成
フォーラムに際してのスライド用図表の作成

「健 康」

No.	開催日	場 所	出席者(名)
28	6. 27	食品産業センター会議室	5
29	11. 1	食品産業センター会議室	7

内 容

提出された報告書最終原稿についての討議
細谷先生への校閲依頼のための完成原稿の準備
七周年記念フォーラムにおける発表内容の討議およびスライド作成等に関する打合せ
発表後の印刷作業の監修者の取決め

「食品の安全性」

№	開催日	場 所	出席者(名)
21	5. 27	国際文化会館	6
22	9. 12	学士会館	12
23	10. 25	国際文化会館	6

内 容

- 第21回 報告書最終原案とりまとめ後の追加項目の検討および第一次リポート後の残された問題の検討
- 第22回 国立衛生試験所義平部長を囲み、新規食品の安全性問題についての討論
- 第23回 七周年記念フォーラムにおける発表要旨およびスライド作成等に関する打合せ

「食用油脂の栄養と安全性」

№	開催日	場 所	出席者(名)
15	6. 14	国際文化会館	5
16	9. 9	国際文化会館	7

内 容

- 分担項目の確認
- 書式、文体等に関する打合せ
- 原稿提出の目標期日の打合せ
- 中間とりまとめ方法等に関する打合せ

日本国際生命科学協会会員名簿

(アイウエオ順)

会 長	小 原 哲二郎	東京教育大学名誉教授 151 東京都渋谷区上原3-17-15-302	☎03-460-6834
副 会 長	戸 上 貴 司	日本コカ・コーラ(株) 取締役先任副社長 150 東京都渋谷区渋谷4-6-3	☎03-407-6311
"	角 田 俊 直	味の素(株) 取締役 104 東京都中央区京橋1-5-8	☎03-272-1111
監 事	印 藤 元 一	高砂香料工業(株) 総合研究所 常務取締役 144 東京都大田区蒲田5-36-31	☎03-734-1211
"	難 波 靖 尚	前(勲)食品産業センター 理事 189 東京都東村山市萩山町4-13-7	☎0423-93-1050
アドバイザー	石 田 朗	前(勲)食品産業センター理事長 108 東京都港区高輪1-5-33-514	☎03-445-4339
"	池 田 正 範	(勲)食品産業センター 理事長 105 東京都港区虎ノ門2-3-22	☎03-591-7451
"	栗飯原 景 昭	(勲)食品薬品安全センター泰野研究所 研究顧問 食品環境部長 257 神奈川県泰野市落合729-5	☎0463-82-4751
理 事	青 木 真一郎	日本シー・ビー・シー・インターナショナル(株)代表取締役 113 東京都文京区湯島2-31-1 湯島三友ビル	☎03-818-8911
"	秋 山 孝	長谷川香料(株) 理事 103 東京都中央区日本橋本町4-4-14	☎03-241-1151
"	安 達 守	山之内製薬(株) 研開計画部長 174 東京都板橋区小豆沢1-1-8	☎03-960-5111
"	荒 尾 修	協和醸酵工業(株) 常務取締役 100 東京都千代田大手町1-6-1 大手町ビル	☎03-201-7211
"	荒 木 一 晴	森永乳業(株)食品総合研究所分析センター室長 153 東京都目黒区目黒4-4-22	☎03-712-1131
"	石 川 宏	(株)ニチレイ 商品開発室長 189 東京都東村山市久米川町 1-52-14	☎0423-91-0491
"	落 合 董	昭和産業(株) 製油技師長 101 東京都千代田区内神田2-2-1	☎03-293-7754
"	小 原 範 男	山崎製パン(株) 中央研究所長 130 東京都墨田区千歳3-15-6	☎03-632-0630
"	河 瀬 伸 行	三菱化成食品(株) 生産企画部長 104 東京都中央区銀座5-13-3 いちかわビル8F	☎03-542-6242
"	貴 島 静 正	エーザイ(株)理事 研究三部長 112 東京都文京区小石川4-6-10	☎03-817-5230
"	向 後 新四郎	白鳥製薬(株) 常務取締役千葉工場長 260 千葉県千葉市新港54	☎0472-42-7631

〃	小 鹿 三 男	日本コカ・コーラ(株) 学術研究本部長 150 東京都渋谷区渋谷4-6-3	☎03-407-6311
〃	小 西 博 俊	糖質事業開発協議会 運営委員長 100 東京都千代田区大手町1-2-1 三井物産(株) 糖質醸酵部 企画管理室気付	☎03-285-5852
〃	笹 原 徹	キリンビール(株)取締役研究開発部長 150 東京都渋谷区神宮前6-26-1	☎03-499-6111
〃	笹 山 堅	ファイザー(株) 代表取締役社長 105 東京都港区西新橋1-6-21	☎03-503-0441
〃	神 伸 明	日本ケロッグ(株) 代表取締役社長 160 東京都新宿区西新宿1-26-2 新宿野村ビル36階	☎03-344-0811
〃	末 木 一 夫	日本ロシュ(株) 化学品本部二部開発課長 100 東京都千代田区丸の内3-2-3 富士ビル	☎03-214-5155
〃	菅 原 利 昇	ライオン(株) 食品開発研究室長 130 東京都墨田区本所1-3-7	☎03-621-6483
〃	十 河 幸 夫	雪印乳業(株) 常務取締役研究本部長 350 埼玉県川越市南台1-1-2	☎0492-44-0731
〃	曾 根 博	理研ビタミン(株) 代表取締役社長 101 東京都千代田区西神田3-8-10	☎03-261-4241
〃	高 木 ヤスオ	クノール食品(株) 取締役研究開発部長 213 神奈川県川崎市高津区下野毛976	☎044-811-3111
〃	田 口 和 義	三菱商事(株) 食料開発室商品開発チームリーダー 100 東京都千代田区丸の内2-6-3	☎03-210-6415
〃	田 口 信 行	ハウス食品工業(株) 海外業務室長 103 東京都中央区日本橋本町2-5-11 フジボウ本町ビル	☎03-243-1239
〃	土 屋 文 安	明治乳業(株) 中央研究所参与 189 東京都東村山市栄町1-21-3	☎0423-91-2955
〃	堤 賢太郎	リノール油脂(株)名古屋工場技術部部长代理 455 愛知県名古屋市港区潮見町37-15	☎052-611-4111
〃	鶴 田 大 空	東ソ(株)アスパルチーム部長 107 東京都港区赤坂1-7-7	☎03-505-6471
〃	手 塚 七五郎	(株)ロッテ中央研究所取締役部長 336 埼玉県浦和市沼影3-1-1	☎0488-61-1551
〃	中 島 宣 郎	武田薬品工業(株) 技術企画部長 541 大阪府大阪市東区道修町2-27	☎06-204-2921
〃	那須野 精 一	キッコーマン(株) 取締役研究本部第三研究部長 278 千葉県野田市野田399	☎0471-23-5506
〃	新 村 正 純	味の素ゼネラルフーズ(株)取締役研究所長 513 三重県鈴鹿市南玉垣町 6410	☎0593-82-3186
〃	野 中 道 夫	大洋漁業(株)大洋研究所副所長 104 東京都中央区月島3-2-9	☎03-533-1901
〃	萩 原 耕 作	仙波糖化工業(株) 専務取締役 321-43 栃木県真岡市並木町2-1-10	☎02858-2-2171

〃	橋本浩明	サンスター(株) 顧問 569 大阪府高槻市朝日町3-1	☎0726-82-5541
〃	服部達彦	南海果工(株) 代表取締役 649-13 和歌山県日高郡川辺町 土生1181	☎0738-22-3391
〃	平原恒男	カルピス食品工業(株) 研究開発センター所長 150 東京都渋谷区恵比寿南2-4-1	☎03-713-2151
〃	藤原剛	鐘淵化学工業(株) 取締役食品事業部長 530 大阪市北区中之島 3-2-4	☎06-226-5240
〃	水野敏雄	豊年製油(株) 技術サービス部長 100 東京都千代田区大手町1-2-3	☎03-211-6475
〃	村井浩	三栄化学工業(株) 監査役検査部長 561 大阪府豊中市三和町1-1-11	☎06-333-0521
〃	村瀬幸市	不二製油(株) 研究本部長 589 大阪府泉佐野市住吉町1	☎0724-63-1120
〃	森本直樹	日本ペプシコ社 技術部長 107 東京都港区赤坂1-9-20 第16興和ビル	☎03-584-7343
〃	柳瀬仁茂	キュービー(株) 研究所副所長 183 東京都府中市住吉町5-13-1	☎0423-61-5965
〃	山内久美	(株)ボゾリサーチセンター 取締役社長 東京都世田谷区羽根木1-3-11 ボゾリサーチビル	☎03-327-2111
〃	吉栖肇	サントリー(株) 基礎研究所長 618 大阪府三島郡島本町若山台 1-1-1	☎075-962-1661
〃	渡辺寿	日清製油(株) 研究所課長 221 神奈川県横浜市神奈川区 千若町1-3	☎045-461-0181
幹	事 荒井珪	食品産業センター 技術開発部長	☎03-591-7451
〃	桐村二郎	味の素(株) 理事	☎03-272-1157
〃	福富文武	日本コカ・コーラ(株) 学術調査 マネージャー	☎03-407-6311

〈お知らせ〉

1. 新規加入

申込年月日	組織名	理事名
63.12. 1	キューピー(株)	研究所副所長 柳瀬 仁茂
63.12.12	リノール油脂(株)	名古屋工場技術部長代理 堤 賢太郎

2. 理事の交代

交代年月日	組織名	新	旧
63. 9. 29	日本ペプシコ(株)	技術部長 森本 直樹	技術部長 佐藤 一夫
63.10. 5	キリンビール(株)	取締役研究開発部長 笹原 徹	基盤研究所長 井上 喬
63.10.11	日本ロッシュ(株)	化学品本部二部開発課長 末木 一夫	化学品開発部長代行 藤井 高任

3. 退会

63. 6	明治製菓(株)
-------	---------

日本国際生命科学協会活動日誌 (1988年7月1日～12月15日)

- 7月8日 編集委員会(於 食品産業センター)
- 7月12日 研究活動委員会(於 島根イン)
- 7月14日 バイオテクノロジーセミナー実行委員会(於 ヤククレト本社)
- 7月18日 幹事会(於 日本国際生命科学協会)
- 7月21日 幹事会(於 日本国際生命科学協会)
- 8月1日 第二回理事会(於 国際文化会館)
- 8月1日 「栄養とフィットネス国際会議」派遣団報告会(於 国際文化会館)
- 8月9日 七周年記念事業実行委員会(於 日本国際生命科学協会)
- 8月24日 七周年記念事業実行委員会(於 島根イン)
- 8月29日 バイオテクノロジーセミナー編集委員会(於 日本コカ・コーラ)
- 9月7日 バイオテクノロジーセミナー編集委員会(於 日本コカ・コーラ)
- 9月9日 WG「食用油脂の栄養と安全性」(於 国際文化会館)
- 9月12日 WG「食品の安全性」(於 学士会館)
- 9月14日 WG「栄養」(於 日本国際生命科学協会)
- 9月30日 七周年記念事業実行委員会(於 国際文化会館)
- 9月30日 「E.ヘッカー博士講演会」(於 国際文化会館)
- 10月11日 常任理事会(於 島根イン)
- 10月16～20日 「食品の安全性」トキシコロジー・フォーラムに参加(於 北京市)
- 10月20日 バイオテクノロジーセミナー編集委員会(於 日本コカ・コーラ)
- 10月25日 WG「食品の安全性」(於 国際文化会館)
- 10月26日 WG「栄養」(於 日本国際生命科学協会)
- 10月27日 「リスクアセスメント講演会」(於 国際研究交流会館)
- 10月28日 「A.マラスピーナ会長を囲むマネジメント会議」(於 経団連会館)
- 11月1日 WG「健康」(於 食品産業センター会議室)
- 11月2日 幹事会(於 国際文化会館)
- 11月28日 「七周年記念フォーラム ― 健全な食生活をめざして」(於 経団連会館)
- 11月29日 新ワーキング・グループ設立準備会(於 国際文化会館)
- 11月30日 編集委員会(於 食品産業センター)
- 12月15日 広報委員会(於 国際文化会館)
- 12月15日 「J.サワーズ博士講演会」(於 国際文化会館)

〈追補〉

- 4月28日 WG「栄養」(於 日本国際生命科学協会)
- 5月27日 WG「食品の安全性」(於 国際文化会館)
- 6月14日 WG「栄養」(於 日本国際生命科学協会)
- 6月14日 WG「食用油脂の栄養と安全性」(於 国際文化会館)
- 6月27日 WG「健康」(於 食品産業センター会議室)

ILSI JAPAN

食品とライフサイエンス

No. 23

1988年12月15日 印刷発行

日本国際生命科学協会 (ILSI Japan)

会長 小原哲二郎

〒166 東京都杉並区梅里2-9-11-302 小池ビル

TEL 03-318-9663

編集：日本国際生命科学協会(虎ノ門)編集委員会

〒105 東京都港区虎ノ門2-3-22 秋山ビル

財団法人 食品産業センター気付

TEL 03-591-7451

(無断複製・転載を禁じます)