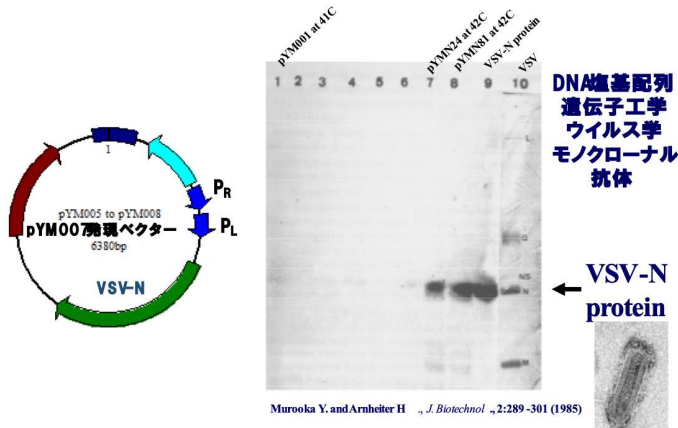


## 米国NIHで遺伝子組換え技術を習得

広大に助教として赴任した機会に、今からは試験管内遺伝子組み換え技術が必要と思い、以前の NIH のボスのラザリニ博士に手紙を書いた。彼は部長に昇格していて、Visiting Scientist の席を用意してくれた。当時はまだ、動物やヒトの遺伝子を自由にクローニングしたり、大腸菌で発現したりできる時代ではなかった。僕はNIHで、ラムダファージの P<sub>R</sub>と P<sub>L</sub>プロモーターを連結した効率の良い遺伝子発現ベクターを開発した。開発した温度制御発現ベクターにより、動物ウイルス VSV-N protein を発現させワクチン研究に供試した。こうして初期のDNA塩基配列決定技術や遺

## pYM系発現ベクター開発による ウイルスタンパク質の生産



伝子組み換え技術を広大に持ち帰った。帰国時にボスは、NIH 内の癌研究所の友人からヒトメタロチオネイン遺伝子をもらい受け、持たせてくれた。

広大では学生達と遺伝子高発現ベクターを使用して、ヒトメタロチオネインや企業との共同研究でヒホルモンタンパク質などを生産させた。これら一連の成果を、当時まだ共産圏であったチェコ・スロバキアの OMPシンポジウムで講演したところ、満員の聴衆から盛大な拍手喝采を浴びた。当時、僕達の遺伝子工学研究は、世界の最先端にあった。

その後、野村君、Molanr 君、白君、Cho 君、Choi 君、許君、会見君、村上君、橋本君など多くの優秀な学生達に恵まれ、種々な微生物で利用できる、宿主-ベクター系を次々と開発した。遺伝子操作を可能にした宿主-ベクター系を表にサマライズする。それらは20種属細菌でそのうち赤で示した 14 種属は世界で初めての報告となった。

## 遺伝子発現ベクターによる 異種タンパク質生産

- 生体内遺伝子操作法の開発 (阪大)
- 宿主-ベクター系の開発 (NIH, 広大, 阪大)
- 遺伝子高発現ベクターの開発 (NIH, 広大, 阪大)
- 動物ウイルスVSV-N タンパク質生産 (NIH)
- ヒト・アポリポプロテイン A1の生産 (広大)
- ヒト・メタロチオネインの生産 (広大, 阪大)

共産圏時代のチェコ・スロバキア  
第2回OMP 1986年



こうした研究を通して、国際学会からも招待状が来るようになり、学术交流の日本の代表の一人としても外国に行くようになった。日本-メキシコ通商 100 周年記念には、メキシコでシンポジウムの開催依頼が外務省からあった。永井史郎先生を団長に京大の谷先生、協和発酵の富田先生、

## 二国間学術交流 日本代表団員

ポーランド科学アカデミー  
学術交流日本代表団



ポーランド科学アカデミーにて（左から左右田教授、ヤギエオ大学長、八木教授、ポーランド科学アカデミー総裁、筆者）



日本の代表団とともに、Kossuth 大学

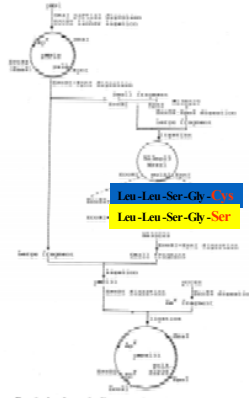
名古屋大の山根先生らと日本代表団として、始めてビジネスやファーストクラスに乗せていただき、支度金で背広も眺えたという高待遇だった。ポーランドとの学術交流協定には、名大医学部の八木国夫先生を団長として、京大の左右田先生と3人が代表で、ハンガリーとの学術交流には金森阪大総長の団長とともに科学アカデミーを訪問した。

## 開発した遺伝子操作技術と関連する応用研究

技術	宿主領域	代表ベクター	起源	特徴および応用研究
生体内遺伝子操作法	腸内細菌群および <i>Proteus</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.	P1chr100KM (Km)	大腸菌 P1ファージ	P1ファージが大腸菌以外の細菌に感染導入に利用できることを初めて例示した。
	グラム陰性菌全ておよび一部の枯草菌	RP4-Mucls (Ap, Km, Tc)	RP4プラスミド Muファージ	異種細菌間での遺伝子交換が広く可能なことを示した。in vivoクローニングにも応用されている
異種遺伝子発現系	大腸菌, <i>Klebsiella</i> sp., <i>Citrobacter</i> sp., <i>Serratia</i> sp.	pYMO01~pYMO08 (Ap) $c_{857}$ - $P_{pL}$ プロモーター	大腸菌pBR322 ラムダファージ	温度制御による異種遺伝子発現用強力ベクター VSV-N, hMT, Apoprotein Aなど遺伝子産物用に広く利用
	枯草菌	pUGP29Kプロモーター	<i>B. subtilis</i>	胞子形成遺伝子産物
	乳酸菌	pRNLDH, ldhプロモーター	<i>L. plantarum</i>	ダニアルゲン生産、コレステロール分解酵素
	プロピオン酸菌	pPKP8, P8プロモーター	<i>P. freudenreichii</i>	コレステロール酸化酵素生産、アミノプリン酸生産、ビタミンB12生産
プロモーター検索法	グラム陰性菌全て	pCVE1 (Ap) <i>choA</i> pCKM1 (Km) <i>choA</i>	<i>Streptomyces</i> sp. pJ702	コレステロール酸化酵素レポーターとし、グラム陰性菌に広く利用
	枯草菌	pUGK-8	<i>B. subtilis</i>	枯草菌用(ガラクトキナーゼ利用)
宿主ベクター系	<i>Klebsiella</i> 属	pKI212 (Km)	大腸菌pBR322	プルラーナーゼ、アリアルスルファターゼ、モノアミン酸化酵素、窒素固定
	<i>Streptomyces</i> 属	pSY30 (Km Ts)	<i>S. castaneogibbosporus</i> pYH6202	多種類の抗生物質生産菌、コレステロール酸化酵素
	<i>Acetobacter</i>	pAC	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	セルロース生産
	<i>Nocardia</i> 属	pCK202 (Ts)	<i>N. mediterranei</i> pCK101	リファマイシン生産
	<i>Clostridium</i> 属	pCL1, pCS1 (Cm Tc)	<i>Clostridium</i> sp.	好熱菌によるセルロースからのエタノール生産
	<i>Erwinia</i> 属	pBEH3-5 (Ap Cm)	<i>E. carotovora</i> pEC3	ベクチナーゼ、植物病原因子、氷核形成
	<i>Xanthomonas</i> 属	pBXC12 (Ap Cm)	<i>X. campestris</i> pXCL6	多糖生産、植物病原因子、氷核形成
	<i>Acetobacter</i> sp.	pFN2A (Ap)	<i>A. pasteurianus</i>	酢酸菌への様々な機能付与
	<i>Rhizobium</i> 属	pBBR122, pKT230	<i>Pseudomonas</i> sp.	根粒菌への様々な機能付与
	<i>Lactobacillus</i> sp.	pRN14 (Ap Em)	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌への有用機能付与によるプロバイオティクス開発
マメ科植物形質転換法	レンゲソウ	<i>Mesorhizobium huakuii</i> subsp. <i>rengeri</i> B3 (pBBR) および <i>Astragalus sinicus</i>		根粒内での物質生産、新規植物形質転換系、ファイトレメディエーション
	ミヤコグサ, レンゲソウ, ダイズ	pIG121	<i>A. tumefaciens</i> (pBI121) <i>A. rhizogenes</i> (pBI121)	マメ科植物の高効率形質転換系の開発、ワクチン生産、共生分子機構の解明

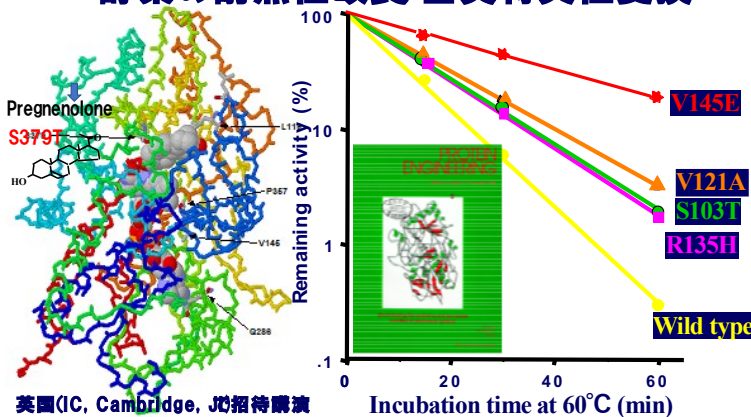
# 遺伝子・タンパク質工学を利用した 酵素の多角利用と機能改変

- ・澱粉枝切り酵素—プルラーナーゼ
- ・クローニング *AEM* 1985
- ・塩基配列決定 *J. Bacteriol* 1986
- ・リポプロテインの発見 *JBC* 1989
- ・分泌透過機構 *JBC* 1989
- ・コレステロール酸化酵素
- ・耐熱性への改良
- ・酵素機能の変換
- ・多角利用
- ・ステロイド変換酵素系 *Mol Microbiol* 1986→



Murooka, Y. and Ikeda, R., *J. Biol. Chem.*, 264:17524 -17531 (1989)

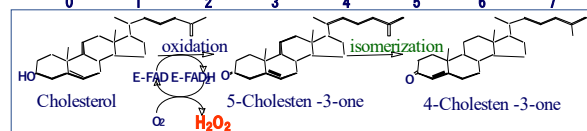
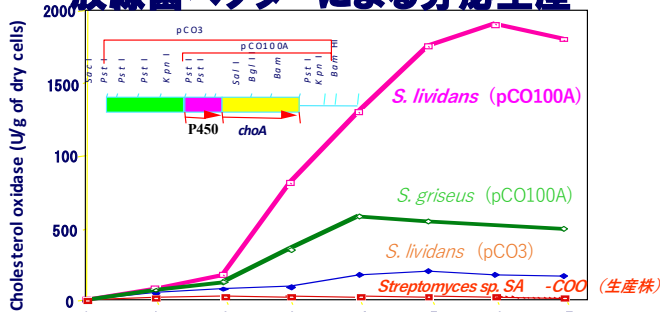
## コレステロール診断薬のタンパク質工学 酵素の耐熱性改良 基質特異性変換



英国 (IC, Cambridge, J) 招待講演

Y. Nishiyama, N. Harada, S. Teshima, M. Yamashita, I. Fujii, N. Hirayama, and Y. Murooka. *Protein Eng* 0 (3): 231-235 (1997)  
Y. Murooka, Y. Nishiyama, M. Toyama, M. Aoi, M. Yamashita, and N. Hirayama. *Stability and Stabilization of Biocatalysts*, Elsevier (1998)

## コレステロール酸化酵素(診断薬)の 放線菌ベクターによる分泌生産



Murooka, Y., T. Ishizaki, O. Nimi, and N. Maekawa. *Appl. Environ. Microbiol* 1382 -1385 (1986)  
Hori, M., T. Ishizaki, S. -Y. Paik, T. Manome, and Y. Murooka. *J. Bacteriol* 72: 3644 -3653 (1990)

## タンパク質工学研究

次に、遺伝子工学を利用した酵素の多角的利用とタンパク質工学による酵素の耐熱性改良や機能改変の研究も行ったので、その一部を紹介しよう。

阪大の原田研究室では、多糖類の構造決定や酵素分解の研究をしていたので、その流れをくんで阪大から広大に移ってきた大学院生の滝沢君が、世界に先駆けてデンプンの枝切り酵素

であるプルラーナーゼ遺伝子のクローニングに成功した。さらに、桂木君とともにその全塩基配列を決定した。後に、パスツール研究所のプースリー博士もこの酵素の塩基配列に挑んでいたことを知った。我々の発表を知った博士からの要請で塩基配列データを送った。当時、塩基配列決定には一年以上かかった。彼は、

Molecularbiology and Microbiology という権威ある雑誌の編集者でもあったことから、以後論文掲載に便宜を図ってくれた。池田君がこの酵素のアミノ酸置換を行い、プルラーナーゼがリポプロテインであり細胞外分泌に関与していることを証明し、米国の *J. Biol. Chem.* 誌に掲載された。

トーヨーボーではコレステロール診断薬に使用するコレステロール酸化酵素を放線菌で

生産していた。そこで、放線菌のベクターを作成した我々の研究室に共同研究依頼がきた。

卒論生の石崎君は、半年もたない内に「先生クローンが取れました」と報告してきた。こうして、1986年に始めてコレステロール酸化酵素を放線菌からクローニングし、元の生産株の数百倍の分泌生産に成功した。放線菌が抗生物質を合成するにはP450を必要とするが、その遺伝子は見つかっていなかった。そのP450遺伝子も彼が発見して学会を驚かせた。

診断薬酵素として海外に広く輸出するには、熱やpH安定性が求められる。そこで、トーヨーギーの西谷君達とタンパク質工学によるアミノ酸置換を行って、pH安定性と60℃でも安定な耐熱性酵素の改良に成功した。さらに、この酵素の活性中心のアミノ酸置換により、コレステロールよりプレグレノロンに基質特異性を持つ酵素の機能変換にも成功した。この酵素の三次構造モデルは、酵素のX線構造解析の専門家である東海大学の平山令明教授との共同研究で作成され、Protein Engineering 誌の表紙にも採択された。この研究で英国インペリアルカレッジ、ケンブリッジ大学、ジョンイネス研究所に招待されセミナーを行った。

## 食品微生物研究

### 乳酸菌

- ・ 形質転換系の開発
- ・ 経口減感作療法への利用
- ・ インターロイキン誘導機構

### プロピオン酸菌

- ・ 形質転換系の開発
- ・ ALAの生産
- ・ ホルフィン生合成
- ・ ビタミンB<sub>12</sub>生合成

### 酢酸菌

- ・ 伝統醸造菌の同定
- ・ 形質転換系の開発
- ・ 機能付与

### 廊下で時折宴会

ポーランド科学アカデミー  
研究所長  
テキサス大学助教授  
筑波大学教授  
Dupo止観研究員  
筑波大学准教授  
国立広大助教

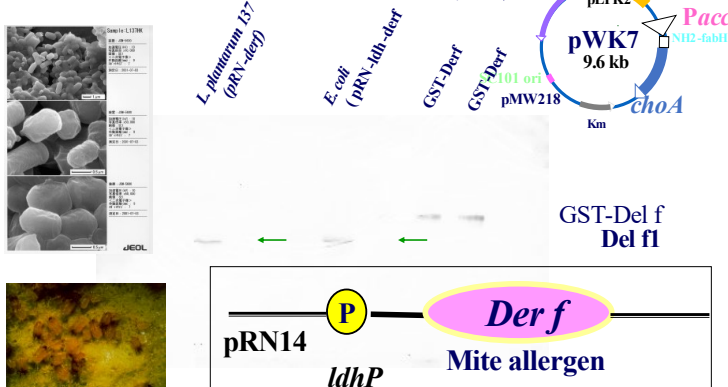


広大では時折、研究室前の廊下で学生達と鍋を囲み飲んでた。たまたまスナップ写真に写っている野村君や橋本君は筑波大学でそしてポーランド、韓国、中国からの留学生達は現在世界各地で活躍している。広大から阪大への転任—食品微生物関連研究

阪神・淡路大震災の年、僕は広大の教授から阪大大学院の教授に転任した。広大では優秀な学生に恵まれ、研究も順調だったので転任の誘に躊躇した。そこで、永井先生に相談したところ即座に「請われたら受けなさい」とアドバイスされ決心した。

阪大で担当した研究室は、柴崎先生以来の食品工学の研究室だった。研究室の伝統も継続する意味で、食

## 乳酸菌ベクターによるコレステロール分解とダニアレルゲン発現



T. Aki, K. Ono, -et al., *Int. Arch. Allergy Immunol.* 103, 349 -356 (1994)  
P. Kiatpapan et al. *J. Biosci. Bioeng.* (2001); *Appl. Environ. Microbiol.* (2001)  
K. Ohkouchi et al., *J. Biosci. Bioeng.* (2012)

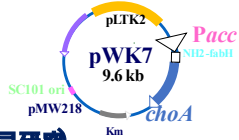
Y. Murooka

# 乳酸菌L137株の特性と機能付与

- ・フィリッピン人の慣れ寿司から採取した乳酸菌 L137株は、澱粉分解能がある
- ・熱殺菌 L137 株はサイトカインを顕著に誘導する
- ・L137 株は、IL-12生成を促し、抗原特異的なIgE 生産を抑制する(アレルギー、喘息などの抑制)
- ・L137 株はがん細胞を減少させる (阪大と武田食品との共同研究)
- ・ウイルス性感染症予防効果がある
- ・L137株に有用機能を付加する コレステロールの経口分解 経口ワクチン (広大小笠研との共同研究)



乳酸菌飲料 ハウス



T. Aki, K. Ono, -et al., *Int. Arch. Allergy Immunol.* 103, 349 -356 (1994)  
 P. Kiatpapan et al. *J. Biosci. Bioeng.* (2001); *Appl. Environ. Microbiol.* (2001)  
 K. Ohkouchi et al., *J. Biosci. Bioeng.* (2012)

## 乳酸菌の発現ベクター開発

Strain	Plasmid	Cholesterol oxidase U/g protein
<i>L. plantarum</i>	pRN14	0.0
<i>L. plantarum</i>	pWK7	2.8
<i>L. casei</i>	pRN14	0.0
<i>L. casei</i>	pWK7	0.9

P. Kiatpapan, M. Yamashita, N. Kawarachi, T. Yasuda, and Y. Murooka. *J. Biosci. Bioeng.* 92 (5): 459 -465 (2001)

乳酸菌の acetyl CoA carboxylase の promoter を利用した発現ベクター作成し、コレステロール酸化酵素を乳酸菌内で発現させた。

さらには、広大の小笠和久研究室との共同研究で、秋君などがダニアレルギーやスギ花粉アレルギーを L137 株で発現させたりした。これらは、経口によるコレステロールの分解やアレルギー等

## 乳酸菌ベクターによるコレステロール分解とダニアレルギー発現

T. Aki, K. Ono, -et al., *Int. Arch. Allergy Immunol.* 103, 349 -356 (1994)  
 P. Kiatpapan et al. *J. Biosci. Bioeng.* (2001); *Appl. Environ. Microbiol.* (2001)  
 K. Ohkouchi et al., *J. Biosci. Bioeng.* (2012)

Y. Murooka

品微生物研究も行った。

前任の高野教授の留学生在がフィリッピン人の伝統発酵食品から分離した乳酸菌 L137 株は、デンプン分解能を持っていた。武田食品との共同研究で、この乳酸菌 L137 株は、サイトカインを顕著に誘導した。L137 株は、IL-12 の生成を促し、抗原特異的な IgE 生産を抑制することからアレルギーや喘息などの抑制も期待された。さらには移植がん細胞も減少させマウスでは延命効果も示した。インフルエンザなどのウイルス性感染症予防効果もあることが分かった。こうした効能が証明されたので、武田食品から会社を引き継いだハウス食品は、L137 株による発酵食品の市販品開発を行っている。僕たちは、この L137 株に有用機能を付加する基礎研究を行った。Kiatpapan さんと橋本君はこの乳酸菌が持つ 15 コのプラスミドの 1 つと

の経口減感作ワクチンを目指したもののだが、遺伝子組換え体のため、まだ基礎研究に止まっている。

この乳酸菌ベクターやコレステロール分解酵素の一連の研究でも、多くの国際会議や大学から講演の依頼があった。貴重なベクターやクローン遺伝子など、使用させて欲しいとの要請には、無料で提供してきたお礼の招待もあった。

### 乳酸菌ベクターの取り持つ縁



コペルニクスが学んだ  
Jagiellonian Uni Krakow, Poland



ボローニア大学創立900年祭の翌年  
Spain in Bologna, Italy

どこの研究者に何を送ったか忘れた頃に、ポーランドのウッジ大学の教授から招待状が届いた。講義の後、クラコフの古い大学を訪ねたとき、そこにコペルニクスの出席簿が残っていたのには驚いた。以来、ポーランドには何度か訪れ、ウッジ大学教授夫妻も、阪大の招聘教授としてお招きした。若手研究者の何人かも招聘研究者としてやってきた。

欧州最古の大学ボローニア大学に招待され時のこと。オーストリア・チロルの山間を抜けて国際列車がイタリアのボローニア駅に着いてホームに降り立ったとたん、“Welcome Professor Murooka to Bologna”の構内放送が流れてきた。最初誰のことかと耳を疑ったが、自分のことだと分かり、感激した。一度は尋ねてみたいと、あこがれていたボローニアで、こんな歓迎を受けたのが初めてだったから。出迎えてくれた教授から、その1年前に、創立900年祭を祝ったと聞かされた。明治維新後130年に満たない東洋の端の大学から来て、かつて、人体解剖を行った古い階段教室を埋める学生達の前で講義するのは感慨深いものだった。講義の後で驚いたことに、ボローニアの市内のスペイン領に入り、その中の宮廷でお茶の招待を受けた。この中庭を囲んでいる建物は、ローマ法の勉強に来ていたスペイン皇室の留学生の寮として建てられたもので、一階には留学生の個室群、教会や謁見の間、二階には国王の滞在中に使われる寝室があり、隣の応接室でお茶の接待を受けたのだった。ちょうどスペイン王室からの留学生が、教授の研究室に滞在中で、僕の講義を受けたことをそこで知った。

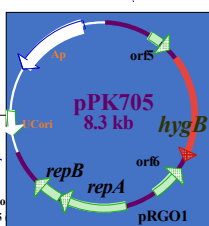
プロピオン酸菌は、広大の上久保研究室でビタミンB<sub>12</sub>研究に使われていたのでなじみ深い菌

## プロピオン酸菌の宿主ベクター系の開発

Species and strains	CFU/ Stability µg of DNA %
<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> IFO12426 <i>Pfr</i>	1.8X10 <sup>6</sup> 83
<i>P. pentosaceum</i> HUT8606 <i>Pfr</i>	1.8X10 <sup>7</sup> 80
<i>P. shermanii</i> HUT8612 <i>Pfr</i>	1.4X10 <sup>6</sup> 85
<i>P. freudenreichii</i> ATCC 4915 <i>Pfr</i>	7X10 <sup>7</sup> 73
<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>freudenreichii</i> IFO12424 <i>Pfr</i>	5X10 <sup>5</sup> 83
	4X10 <sup>4</sup> 48



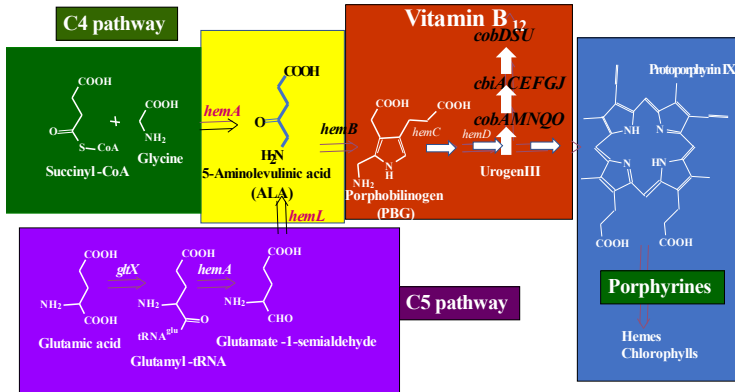
プロピオン酸菌とビフィズバクテリア国際会議  
の行われたフランスの景観地サン・マロ、  
P. Kiatpapan, Y. Hashimoto, H. Namamura, Y.-Z. Piao  
Murooka. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 (11): 4688-4695



P. Kiatpapan, M. Yamashita, N. Kawarachi, T. Yasuda, and Y. Murooka. *J. Biosci. Bioeng.*, 92 (5): 459-465 (2001)

だった。Kiatpapanさんはその宿主ベクター系作成にも成功した。世界中で永らく開発が試みられ、私たちが最初に成功したことを知ったのは、フランスのサン・マロで発表したところオランダの研究者が飛んできて、共同研究を打診されたときだ。プラスミドやプロモーターをプロピオン酸菌から分離すること、ハイグロマイシンを選択マーカーに使うこと等、発表してし

# プロピオン酸菌による5-ALA生産と ビタミンB<sub>12</sub>の代謝工学



Murakami, K., Hashimoto, Y. & Murooka, Y. . *Appl. Environ. Microbiol.* ., 58:347-350 (1993)  
 Chen, W., Russel, C.S., Hashimoto, Y., Murooka, Y. & Cosloy, S.D. . *J. Bacteriol.* ., 176:2743-2746 (1994)  
 Piao, Y., Kitapan, P., Yamashita, M. & Murooka, Y. . *Appl. Environ. Microbiol.* ., 70:7561-7566 (2004) Y. Murooka

まったので彼らもそれに沿って開発できたのだろうか、共同研究の話はその後なかった。

## 5-ALA 生産株の育種

このプロピオン酸菌のベクターを利用して、5-アミノレブリン酸の高発現を村上君や橋本君達が、その下流のビタミンB<sub>12</sub>合成経路の遺伝子群は Piao 君達が全部クローニングして、いわゆる代謝工学研究をやってくれた。この留学生達も、現在タイや中国の大学教授として活躍している。

## 光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* による5-ALAの生産

***Rs* は光照射で5-ALA生産酸素感受性**

**Photoreactor: スケールアップに難**

- ・ 光照射なしの好気培養で5-ALA生産は出来ない?
- ・ 大腸菌の遺伝子組み換えで5-ALA生産?

**変異株による生産に挑戦**

S. Nagai, K. Sasaki et al., Hiroshima Univ.

ここで、工業化に成功した5-アミノレブリン酸(5-ALA)の研究例を紹介しよう。広大の永井先生と佐々木健さんが光合成細菌で5-ALA生産を研究され、コスモ石油で開発することになった。そこで、永井先生から、生産株の育種指導を頼まれた。

## 変異株による5-ALA 生産株作成に成功

Wild type strain : *Rhodobacter sphaeroides* CR-001 (IFO12203)

5-ALA (mM)	Mutant strain	性質 (試験したコロニー数・方法)
0.25	CR-105	酸素耐性株: 選択可能 1/5,000 (5ALAバイオアッセイ系開発)
1.5	CR-286	0.1% 酵母エキスで5-ALA分泌生産 1/10,000 ミクロタイタープレート
3.8	CR-386	光照射なしで5-ALA生産 1/10,000 (TCプレート)
8.1	CR-450	バイプロダクト経路を切断 1/15,000 ミクロタイタープレート
11.2	CR-520	低阻香料 levulinic acid 添加 1/15,000 ミクロタイタープレート
>50	CR-606	J. Biosci. Bioeng., No. (1999) 1/15,000 ミクロタイタープレート
	CR-720	高生産株: スケールアップ可

>80.00変異株から工業生産に成功(コスモ石油)  
 Nishikawa, S--Murooka, Y., J. Biosci. Bioeng., 87 (1999)

光合成細菌は、5-ALA生産に光を要求し、酸素に弱いので攪拌が出来なくてスケールアップは困難だった。そこで、光なしで5-ALAを作ることに焦点を当てた。将来の医薬品や食品利用も考えて得意な遺伝子組換えではなく、変異株取得に挑戦した。まず、5-ALAのバイオアッセイ法を開発し、実用化に必要な変異株を一万個単位で選んでいった。酸素耐性株、高価な酵母エキスを要求しない株そして光照射を要求しない株の

取得に成功した。さらに幾つかの変異を重ねていって、最終的に8万個以上の変異株からスケールアップ可能な高発現株を取得し、コスモ石油で5-ALAの工業生産に成功した。その後、同社の田中さん(永井研で博士)の努力により世界的に5-ALAのマーケットが広がっている。

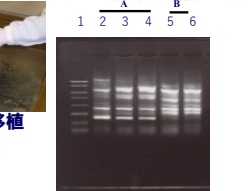
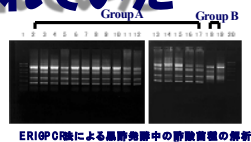
**一報の論文で食酢専門家に**

次に酢酸菌の話をしよう。奈良の玉の井酢のバッチ式の伝統食酢醸造では、百年以上も酢酸菌膜移植して殺菌することなく醸造を継続しているという。そこで、現在どんな微生物が育っているか調べたいと研究員を派遣してきた。早速ERICなどのマーカーを使うPCR法で醸造過程の100以上のサンプルの細菌遺伝子を調べたところ、一種類の優良酢酸菌株が優位を保っていることを突き止めた。この研究をアメリカ微生物学会誌Aple Environ Microbiolで発表したところ、イタリアのレッジョエミアで開催される「第一回食酢と酢酸菌国際学会」での講演依頼が来た。世界中に

何万もの食酢醸造所があるが、食酢醗酵中の微生物叢を遺伝子解析したのは僕たちが初めてだった。この講演は好評で僕はたった一報の論文でもって食酢の専門家とされ、日本語と英語のレビュー本を3冊も書くことになった。この研究が引き金となって、バルサミコ酢をはじめ発酵食品中の複合微生物群の遺伝子研究が始まった。

**日本の食酢醸造では、百年間純粋培養が保たれていた**

- 百年菌膜を植え継いできた
- 食酢発酵中の微生物叢(フロラ)を遺伝子で調べたのは初めてだった
- 発酵食品の複合微生物群の遺伝子研究が広がった

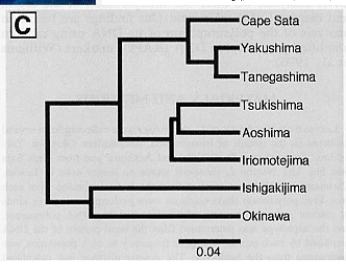
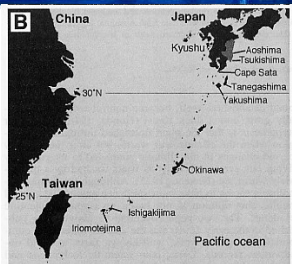


1. サイズマーカー  
 2. *A. pasteurianus* ATCC33445 T  
 3. TN-27.4.TN -136.5.TN -1.6.TN -2株  
 黒酢発酵中に増殖してきた酢酸菌叢の同定標準株(タイプカルチャー、T)、*Acetobacter pasteurianus* ATCC33445と分離株.TN-27株とTN-136株は、同じであった。  
 Appl Environ Microbiol 67 (200)



**「神の島」青島のピロウ樹の起源 Origin of *Livistona chinensis* var. *subglobosa* on the "Islet of the Gods" Aoshima, Japan**

Yoshida, N., Nobe, R., Ogawa, K. & Murook *American J. Botany*, 1066 (2000)



**青島のピロウ樹のルーツ**

遊び心研究の最たる例は青島ひるうじまの日老樹起源の研究だろう。宮崎大学の吉田君から集中講義を頼まれ、その後一緒に青島を訪れた。青島のピロウ樹は亜熱帯植物群として特別天然記念物に指定されている。この島は、古事記や日本書紀に記載のある「海幸と山幸」の逸話で有名な、青島神社の管轄である。入り口に看板があつて、「青島のピロウ樹は、第3紀以前に高温に適した植物が繁茂した後もこの島に止まったという説と黒潮に乗っ

ろウ樹は、第3紀以前に高温に適した植物が繁茂した後もこの島に止まったという説と黒潮に乗っ



て南の島から漂着した説」があると書かれ、それぞれ大正〇〇年、〇〇博士とあった。吉田君と「これ調べてみる？」と冗談を言ったところ、次の年「先生、科研費が当たったから、沖縄の石垣島や西表島に調査に行きませんか？」と誘いが来た。「行く行く」と二つ返事。これらの島の天然ビロウ樹葉採集試料を吉田研究室で遺伝子解析した結果、西表島から海流によってたどり着いたことが分かった。「これ、Nature にだそう」と数千年来神の島に保存されてきた天然ビロウ樹の起源のストーリーを書いて、Nature 誌に投稿したところ、「興味深いが、少々ローカルであり、科学に対するインパクトに欠ける」というコメント付で、不採択だった。でも、アメリカ植物学誌が採択してくれた。5年前に青島を訪ねたところ、看板は新しくなっていた。そこには、「ビロウ樹の起源は、吉田博士、室岡博士の遺伝子研究によればー」でなくて、大正時代のままだった。さすが、宮内庁管轄の神社。