

ホップ育種の今昔(約40年間の流れ)



岩手大学国際交流コーディネータ、Momma Hop Laboratory、
元キリンビール株式会社基盤技術研究所、元岩手大学農学部

門馬 孝之

Takayuki Momma

私の研究が始まったのは、今から40年以上前になります。

岩手大学農学部植物病理学研究室に入った時に、病理学研究室高橋先生を選択しホップの形態観察を始めたのが研究の始まりでした。ホップに関する研究生活が始まった時と言っても良いと思います。はじめに一番印象に残っており、現在の育種に結び付いている研究(ホップの雌雄性)を述べようと思います。さらに、時代を遡って岩手大学時代に始めたホップの研究から次第に育種に興味を覚え自分のホップ品種を作りたいと考えたのは何故なのかを感じていただきたいと思います。ほぼ時系列的に、ホップの研究で何をどのように進めて行ったのかを綴ってみました。ホップ研究を実際にどう行ってきたかを詳細に述べたつもりです。(1) ホップ雌雄性の解明に着手、(2) ホップ矮化病の対策(第1次発生) ①外部形態観察、②内部形態観察、③茎頂培養法を使ったHSVd(Hop stunt viroid)フリー株の作出・増殖、(3) ホップ植物体の大量増殖技術、(4) ホップの樹脂含量の測定、(5) ホップ矮化病の対策(第2次発生)、(6) ホップ形質転換の試みと技術確立 ①品種ごとの違い、②ホップの葉、茎からの組織培養による個体作出(i) ホップ組織からの培養による個体作出の条件、(ii) 発根条件、(7) 今後のホップ育種の展望、そして追記として、(8) ホップの香氣成分、(9) ホップ種子の内部形態と発芽条件の検討を入れてみました。終わりにこれまでの研究に対する思いと今後展開されるであろうことについて、私なりの考えを綴ってみました。これらは別の研究をする時、ホップを他の植物に置き換えてもできる指針となると考えています。

1. はじめに

アサ科(*Cannabaceae*)には、カラハナソウ属(*Humulus*)、アサ属(*Cannabis*)があります。*Humulus*属の一つが、栽培種であるホップ(*Humulus lupulus* L.)で、北緯35°~北緯70°の間に生育しています。もう一つの*Cannabis*属の代表は、hemp(大麻)です。同じような植物特性を持っていますが、調べてみると違っているところも数多くあります。さらにビールの醸造に受精ホップを使っているところもあります。これはごくまれで、受精したホップは、 α 酸含量が低下し、品質が良くないと言われています。世界で醸造しているほとんどのビールは未受精ホップを使っています(Neve, R.A. 1991)。ホップに関する総括的な本を詳しく読むのであれば、Neve, R. A. 1991の本をお勧めします。この本を読みながらそれぞれの文献をまた引きしていくとかなり詳しいことがわかると思います。

本稿は、ホップ矮化病創世記から現在に至るまで世の中の技術の発展と私が今の心境に至った経緯等について時を追って述べています。何度も出てきますが、岩手大学農学部高橋研に入った時が、私のホップ研究の始まりであり、現在の育種を始めたものになっています。ホップ研究の流れをこれまでに実施してきたことを中心に述べていくことにします。約40年間のすべてを語り尽くすには限界があるので、関連研究を含めてという意味で、私が過去に行ってきた仕事を中心に述べることにします。さらに詳しく知りたい方は最後にあげた引用文献、参考資料等を熟読することをお勧めします。私とは違った視点で仕事をしている人も多いのでそちらも参考にされるとより広い知識を得ることができます。

2. 私の研究の始まり

私は、1979年に岩手大学農学部植物病理学教室に入り、分子生物の世界に足を踏み入れました。その時がホップとの初めての出会いでした。当時植物病理学研究室高橋助教授が岩手県にあるビール会社（アサヒビール株式会社岩手試験場）の委託研究を始めた時で、この時自分の将来を決めることになろうとは思いませんでした。最初の年は、ホップの観察、生長を追う毎日に明け暮れていましたが、ホップという目新しい植物に興味を持って観察を続けていたことを思い出します。アサヒビールの圃場でホップ植物体（信州早生）数株を使って、ホップ矮化ウイルス（信州早生）を感染させたものを準備し、観察・栽培記録を取り始めました。世界の状況を見ると、1967年、アメリカのT. O. Dienerがジャガイモやせいも病（病原体：ジャガイモやせいもウイルス Potato spindle tuber viroid (PSTVd)）を世界で初めて見つけていました。この時 Viroid (Virus-like の意味) という言葉を使ったのがウイルス病の最初だと記憶しています。その頃、Dienerのもとで PSTVd の研究をしていた高橋先生が岩手大学に戻り研究を始めたとき、ホップにもウイルスがいるらしいことを知り、高橋先生が北海道大学の村山先生と調査を始めていました。その時に Diener の書いた著書が出版されたばかりでした。ホップ矮化病を担当する学生三人（私を含め）で Diener の初版本 (Diener T. O. 1979) を週一のペースで全訳していたことを今でも思い出します。その頃北海道大学でウイルスに感染したホップが見つかっていまし

た。当時は、ウイルスが引き起こす病気とはわからずに外様病と呼んでいました。東大、農工大と共同研究をしていた岩手大学高橋助教授がこの病気のシーケンスを決め論文にし (Ohno, T. et al. 1983)、ホップ矮化病 Hop stunt disease (HSD) (病原体：ホップ矮化ウイルス Hop stunt viroid (HSVd)) と名づけました。この頃、植物と病原体の相互作用に興味を持ち、高橋先生に相談して、この病気による圃場でのホップの生長の違い、外部・内部形態の違い、そして罹病株から HSVd を除去する方法の検討等を始めました。当時ホップ矮化病に関するデータは少なかったため、すべてアメリカ、ヨーロッパの他のウイルス病に罹った作物からの論文等 (Diener T. O. 1979) をもとに仕事を続けました。自分の研究室にいる時間はほとんどなく、ホップの生育期間は圃場、冬季は分析・データのまとめ・電顕室通い・組織培養技術の習得等、あつという間の学部3年後期から修士の3年半でした。その後縁あってキリンビール株式会社 (以下キリン社) に入社、ホップ矮化病 (第1次発生終盤) の収束に向けた仕事をさせていただきました。キリン社は、当時ホップ数百品種の保存株を維持していましたが、時代の流れと共に次第に自社育成株のみを保存、栽培する状況になってきました。その間、キリン社の育種家、分析専門家たちにお世話になり、ホップの育種の経緯等についていろいろな情報を得ることができました。この時にホップ農家 (福島県鏡石皆川家) に1週間滞在しホップの収穫作業を手伝ったことを今でも覚えています。これらの経験は、その後私がホップ育種を始める時の大きな助けになったことは間違いありません。図1に示すようなホップ育種を考え始めたのは、2010年頃かと思います。私のこれまでの研究をまとめている時期で今後どうするかを考えた時期でした。ホップの雌株から雄花を作り出す仕事を始めて、本気で育種を試みようという気持ちを持った頃だと思います。この頃会社



図1. 私が実施してきた研究 (1979年～現在)
図の右側の表記がホップのこれまで実施してきた研究項目

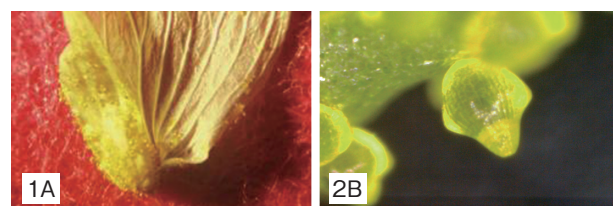


図2. ホップ雄花内苞基部 (1A) とルプリン腺毛 (2B)

で育種の重要性を知り、海外でも盛んにホップ育種が行われていることを知りました。世界がまだまだ従来育種に頼っていた頃だと思います。図2のカラー写真で見るとルプリン腺毛が黄金色に輝いているのがとっても魅力的です。ホップを栽培すると誰しも一度は感動する黄金色に輝いて見える樹脂細胞です。この感動もホップに取り憑かれた一因かもしれません。

岩手大学時代にホップ矮化病（第1次発生）を研究していた関係で1982年4月に麒麟社に入社しましたが、当時の麒麟社は植物バイオをスタートしたばかり、研究員も各大学の植物バイオ関連部署から採用しはじめていたところでした。同時に、若い研究員をいろいろな研究機関に派遣しはじめていました。私もこの流れで入社後、当時の農林水産省・食品総合研究所 (Fukazawa C., et al. 1985)、ドイツ・マックスプランク植物育種研究所 (Momma T. 1988, Stieger, M., et al. 1991)、農林水産省・生物資源研究所・イネゲノム研究チーム第一期生 (Kurata, N., et al. 1994) として研究させていただき、いろいろな技術を習得させていただきました。その間、東北大学で学位 (Momma, T. 1989) もいただきました。麒麟社に戻ってから外部で研究していた成果を利用し、いろいろな植物の分子生物学関連の仕事をしていただきました。当時、ホップの保存品種が会社内に数多く残っており、それらを使って品種特性等を見ることができたのも運が良かったからかもしれません。入社約20年目1999年に、ホップ矮化病が再発生（第2次発生）し、2～3年間収束に向けた仕事を弘前大学佐野助教授とともに行いました。この頃から佐野先生と研究面での本格的な付き合い

が始まりました。第1次発生当時は、お互い岩手大学と北海道大学の学生でした。収束後は、ホップに関連した仕事が増え、2000年に5年計画でホップの育種を含めたプロジェクトが始まりました。その一つがホップの雌雄性のメカニズムの解明とその利用です。アメリカの会社と共同研究を行ったのもこの頃です。その後、特許を持つ麒麟社がその権利を維持してきました (Momma, T. and Umemoto, N. 2013)。特許関係が落ち着き、学会発表等を行った後、私の最終目標である世界に通用するホップの作出を目指してきました。現在は、会社を早期退職してから7年が経ち、岩手大学特任教授時代を経てホップ育種を中心に進めています。この数年の間に育種の考え方が従来と大きく変わってきています。時間的な短縮もさることながら技術も発展し、GM (Genetically Modified) から NPBT (New Plant Breeding Techniques) と呼ばれる世界的な新しい技術開発も進んでおり、その中で実用化されつつある技術もあります。私も岩手大学でその技術の一つを使いウイルスベクターを用いた品種開発を行ってきました。現在、この技術で作られたりんご品種が実用化に向けて基礎研究から応用研究 (実用化研究) の段階に入っていると聞いております (私信)。このレポートを書いている時に日本の中で初めてトマトのゲノム編集食品 (CRISPR-Cas9 の活用) が販売されることになったようです。2021年5月から家庭菜園向けに苗の供給が始まったそうです。近い将来、いろいろな技術を用いた実用作物が世の中に出回ることになると思います。ホップの世界でもこれらのあとを追って新しい技術を使った育種が進んでいます。

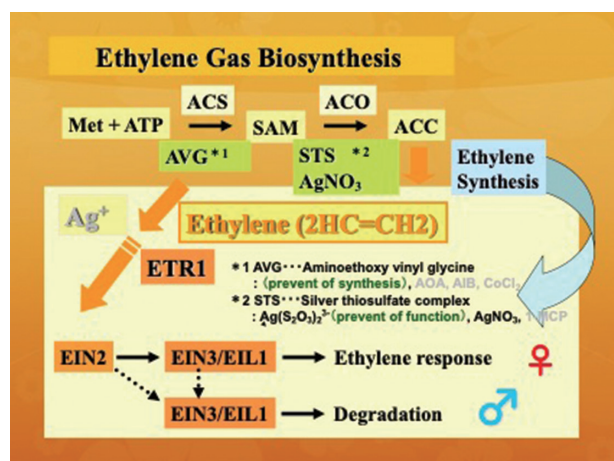


図3. エチレン合成系に関する経路と薬剤 (仮説)

表1. ホップ雌株上に雄花を誘導する化学物質

Conc.	0 (mM)	0 - 0.5 (mM)	0.5 - 8 (mM)	8 - 32 (mM)
Chemicals				
AgNO ₃	♀	♀/♂	♀/♂	♂
STS	♀	♀	♀/♂	♂
Chrysal K-20C	♀	♀/♂	♂	♂
AVG	♀	♀/♂	♂	—

* AgNO₃: 硝酸銀, STS: Silver thiosulfate complex, Chrysal K-20C: クリザール K-20C, AVG: Aminoethoxy vinyl glycine

3. ホップ研究の実際

図1に示したように植物の分子生物学の黎明期に技術面から情報面まで、圃場作業から研究室内での組織培養・遺伝子組み換え・品質調査・分析・土壌調査・土壌分析等、ありとあらゆることを学び、体験させていただきました。ホップに関しては、学生時代にホップ矮化病研究でこの世界に関係していたのが幸運だったのかも知れません。これまでにホップに関する研究のほかにもいろいろなことを行ってきましたが、ここではホップの仕事に焦点を当てて述べることにします。

(1) ホップ雌雄性の解明に着手 (Momma T. and Umemoto N. 2013、門馬孝之と梅基直行 2013、門馬孝之ら 2013)

従来ホップの雄は優良雌株を作り出すために交配され選抜される時に使われていました。“幻の雄”と言われる所以です。これまでは交配して優良品種ができると捨てられていました。ちなみに、雄株は20～30%程度の割合で取れます(私の場合)。通常の雄は、約1/3、Saazer系統の雄は1/5の割合で生じます(Neve, R.A. 1991)。日本の主要品種である信州早生(選抜個体キリン2号)は、Saazer ♀×White Vine ♂から作出されたものですが、現在雄株は存在しません。もちろん、雄株の評価はされていなかったのが幻というほかありません。現在では、雄株の重要性が見直され、維持しているところもあるのではないかと考えています。私がキリン社で信州早生(キリン2号)の一つから薬剤処理により雄株を作り出す方法を見出し特許化し、その後の研究に利用できたのも技術的な打開策の一つでした。

この仕事を始めた時に、ホップの仕事で薬剤を処理して雌株から雄株を作り出している論文(Weston, E. W. 1960)を見つけて、代謝系に効果のあると考えられる薬剤の塗布試験を繰り返しました。論文で使用している薬剤は、過去キリン社でも試してうまくいかなかった経緯がありますが(図3)、エチレン合成系を阻害した時に、STS (Silver thiosulfate complex)、AVG (Aminoethoxy vinyl glycine)等のエチレン合成、機能阻害剤を試してみました。その結果、エチレン合成阻害剤STS濃度8～32ppmを使い雌株中での雄化に成功しました。いくつかの薬剤を試し、エチレン合成系に銀イオンが関与する

ことがわかりました(表1)。このようにして一つの課題がクリアされると次々にいろいろな事象に説明がつくようになり、実際の物作りに入ることができました。

当初、考えていた雌株から作った雄花と雌株の交配は、雌株のみが生じるだろうという過程のもとに仕事を進めましたが、意に反して雌雄双方が生じる事態になりました。その分離比も教科書どおりの1:3に分かれるのではなく、説明がつかない分離比になっています。いずれにしても、キリン社保有の6品種で雌株から雄株を作り出すことに成功し、その中の一つ“超信州早生”の作出を始めました(Momma, T. and Umemoto, N. 2013)。

この間、京都大学矢崎先生との共同研究でキリン2号をはじめとする数品種のシーケンス等からホップの重要遺伝子関連のクローニング、解析等を行っていました(Tsurumaru, Y., et al. 2011)。ビールの重要な遺伝子の一つネロリドール遺伝子を取得し、その性質も調べていました。また、この雌雄性に関する技術はアメリカの会社との共同研究として技術提供をしていました。その後、雄株の性質を知ることが大切であると考え、2012年から信州大学と共同研究で全シーケンスをすることを始めました。個人的には、従来の育種方法で交配を繰り返し、今年で10世代に達するものも出てきています。後述しますが、ホップは栄養繁殖性植物であることから当代でできたものを栄養繁殖できるので後代を繰り返し種子性植物のように固定する必要もないので、すぐに品種にすることも可能です。この中でいくつかの有望そうなものも多少得られつつあるので、これらをビール醸造に使えるかどうか等の調査をしていく予定です。余談ですが、ホップの育種は栄養繁殖植物作出のいろいろな方法、あるいは組織培養等による大量増殖方法等の技術を利用すれば短期間に品種獲得し、大量に増殖することも可能になります。増殖した株の均一性を確保するための遺伝的固定操作の期間が数年から10年程度で品種を作ることができます{(育種年限の短縮)、通常は20年以上かけて品種を作っています}。組織培養・細胞培養によって種苗増殖が可能になれば、優秀な植物体を1株選出、その株と同じ性質を持つ株を大量に増殖することができます。これらは、遺伝子操作や細胞融合などでまったく新しい作物が育成さ

れた際、植物体に外来遺伝子を導入することによって遺伝的固定が困難だったり、不稔だったりする時に優良品種の大量培養をすればすぐに品種にすることができると有効な方法です。

(2) ホップ矮化病の対策 (第1次発生)

私が、キリン社に入社した頃(1982年)に第1次ホップ矮化病発生の収束終盤を迎えていました。この仕事を始めた時に、外様病という名前の病気が流行し、キリン社の研究員が、原因追及、およびこの病気を防除する対策に追われていました。私は岩手大学農学部で3年後期でした。当時、研究室の高橋助教授がアサヒビールと仕事をしていました。前にも話したように私のホップ研究の始まりはアサヒビールの岩手ホップ圃場になります。高橋先生が分離精製したウィロイドをアサヒビールの試験圃場に植わっているホップに接種して、調査を開始しました。同時に、岩手大学構内に網室を設置し、HSVd罹病株、および健全株を育て、形態調査を開始しました。この株を使い、電子顕微鏡で内部形態の観察、そして組織培養(茎頂培養)を使ったHSVdの除去をしました。

以下に岩手大学3年半の研究成果を簡単に述べます(Momma T. 1982)。

- ① 外部形態観察 (Momma, T. and Takahashi, T. 1984, Momma, T. and Takahashi, T. 1983, Momma, T. and Takahashi, T. 1982)

図4に示すように、HSVdに感染したホップは、植物体の様々な部分(主茎、側枝、葉身、葉柄、根)で矮化症状(杉の木型ホップとも呼ばれています)を示し、健全なホップに比べおおよそ1/2 - 1/3に矮小化します。重要なことは、ルプリン腺毛の数も

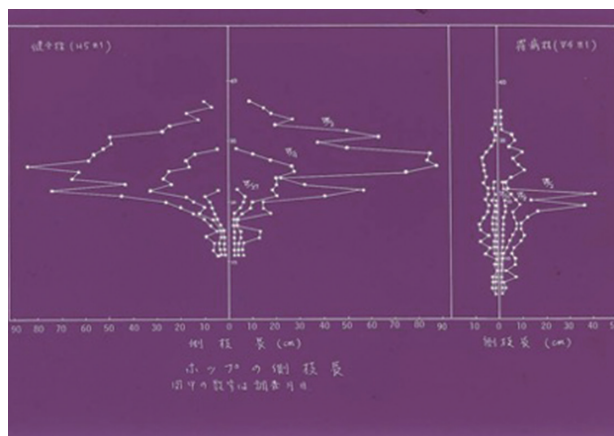


図4. 健全ホップの1次側枝(左)とHSVd罹病ホップの1次側枝(右)の長さ(Momma, T. and Takahashi, T. 1983)

同様に減少するという事です。この病気に感染するとホップの α 酸含量が減り、ホップを栽培し商売しているビール会社にとっては大問題となります。知らず知らずのうちにこのような観察眼を鍛えていただいた高橋先生に今大変感謝しています。のちのちの研究においても遺憾無く観察眼が発揮され次々に結果を導き出すもとなった気がします。

さらに、ホップ健全葉とHSVd罹病ホップ葉を比べると走査型電子顕微鏡での観察から表面のワックス構造が形成されていないことがわかります(図5)。このように、HSVd罹病ホップを詳細に調べていくとHSVdは、ホップの外部形態に様々な悪さをしていることがわかりました。この一枚の走査型電子顕微鏡の観察の後、透過型電子顕微鏡用・超薄切片を作るのにかなりの時間を要しました。今では、観察する材料を簡単に包埋できる樹脂材料、方法等がありますのでここまで苦勞することはないでしょう。こうして内部構造の観察を開始しました。

- ② 内部形態観察 (Momma, T. and Takahashi, T. 1982)

このような外部形態上違いがはっきりしているホップの内部形態はどうなっているのかに非常に興味を持っていました。最初に構造の変わっているところを観察するため、光学顕微鏡で細胞変化のある位置決めを行い、その後透過型電子顕微鏡で観察してみました。図6からわかるように、内部切断面を透過型電子顕微鏡で観察すると膜構造の合成障害、あるいは細胞小器官の破損等が目立ちます。これを茎頂細胞近くまで観察すると茎頂の外衣(tunica)、内体(corpus)細胞にはHSVd感染による変化が見られませんでした。こういった観察を踏まえ、

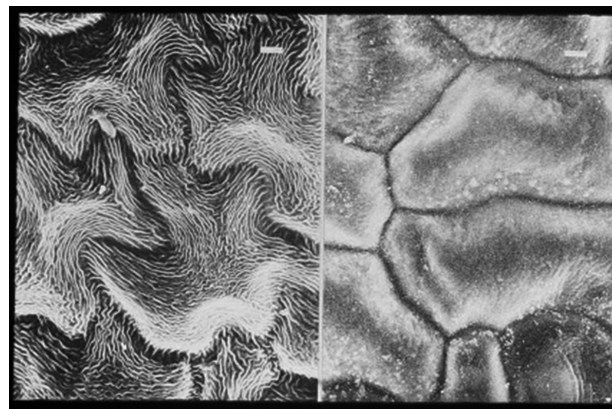


図5. ホップ健全葉上表皮表面(左)とHSVd罹病ホップ葉上表皮表面(右) bar:5 μ m (Momma, T. and Takahashi, T. 1982)

HSVd 罹病ホップから健全ホップを得る方法として茎頂培養法を用いることにしました。これも初めての経験で、同じ研究棟に組織培養の大家がおられ、数ヶ月間、岩手大学果樹園芸学石原教授の付きっきりの指導があったことを記しておきます。石原先生は植物組織培養に非常に精通しておられ、様々な面でご指導をいただきました。

③ 茎頂培養法を使った HSVd フリー株の作出・増殖 (Momma, T. 1982)

この頃、ウイルスを無毒化する技術は世界のいろいろな研究室で行われていました。特に熱処理を併用した茎頂培養は、ウイルスフリー植物を作出するのに有効な技術でした。ウイロイドは、ウイルスとは違い高温で消失しないことがわかっていたので、逆に低温でウイロイドの増殖を止め、ウイロイドのない茎頂を分離、培養することによってウイロイドフリーの植物を作出することを試みました。図7に示すように茎端葉原基を含むように 0.2～0.3

mm に切断し培養すると数個体の HSVd フリーの個体を得ることができました (表2、図7)。

ここで得られたウイロイドフリー植物体をキュウリ (品種：四葉) 等で生物検定、透過型電子顕微鏡による観察等を行いました。得られた個体に HSVd は残っていませんでした。こうして HSVd を除きウイロイドフリーのホップを作り出す方法を確立できました。その後数年間この個体の観察をしたところ感染は確認されなかったそうです。

(3) ホップ植物体の大量増殖技術

キリン社フロンティア技術研究所時代、植物体の大量増殖技術を行い、いろいろな植物の大量増殖技術に関する検討をしました。この中で作り上げた大量培養に関する方法の一つが以下のフローチャートです。いろいろな植物で実施していましたが、ホップについてもこの技術が応用できました。ポイントとなるのは、優良植物 (Elite plants) を作り出すことで、そのあとは他の植物同様大量増殖し、必要

表2. ホップ育成個体の HSV 検定結果
(Momma, T. and Takahashi, T. 1983)

実験番号	母株 ¹⁾	分離組織の 大きさ (mm)	分離組織の 個体数	育成植物の 個体数	HSV-フリー株の 個体数
1 (IV-24, 1980)	V-1 ³⁾ (0.5-1.0)	1.1-2.0 2.1-3.0 3.1-5.0	3 14 5	1 10 2	0 0 0
2 (V-10, 1980)	V-1 (0.5-1.0)	1.1-2.0 2.1-3.0 3.1-5.0	6 4 2	4 4 2	0 0 0
3 (V-11, 1980)	V-1 (0.5-1.0)	0.3 0.5-1.0 1.1-2.0 2.1-3.0 3.1-5.0	1 3 2 10 5	1 0 2 6 5	1 0 0 0 0
4 (V-12, 1980)	V-1 (0.5-1.0)	0.5-1.0	13	3	0
5 (V-31, 1980)	V-11 (1.0-1.5)	0.3 0.4	2 1	0 0	0 0
6 (V-31, 1980)	V-12 (1.0-1.5)	0.3 0.4	2 2	0 0	0 0
7 (V-31, 1980)	V-13 (1.0-1.5)	0.4 0.5-1.0	2 1	0 0	0 0
8 (VI-12, 1980)	V-13 (1.0)	0.2 0.3 0.4 0.5-1.0	1 5 3 1	0 0 1 0	0 0 0 0
9 (VI-21, 1980)	V-4 (≥3)	0.3	5	0	0
10 (VI-28, 1980)	V-13 (≥3)	0.3 0.4 0.5-1.0	3 1 1	0 0 0	0 0 0
11 (VII-5, 1980)	V-13 (≥3)	0.3 0.4 0.5-1.0	5 1 4	1 0 0	0 0 0
12 (VII-12, 1980)	V-13 (≥3)	0.3 0.4 0.5-1.0	6 4 4	4 1 1	0 0 0
13 (VII-9, 1980)	V-7 (≥3)	0.2 0.3	4 4	3 2	0 0
14 (VII-19, 1980)	V-14 (≥3)	0.2	3	2	2
合 計			129	55	3

1) 本実験に供試した母株は、1971年改植の10万株で、1977年岩手県岩手郡玉山村佐々木清太郎氏から入手して岩手大学構内網室に移植したものである。
2) 茎頂組織を分離した年月日
3) 分離時の母株の主茎長 (m)

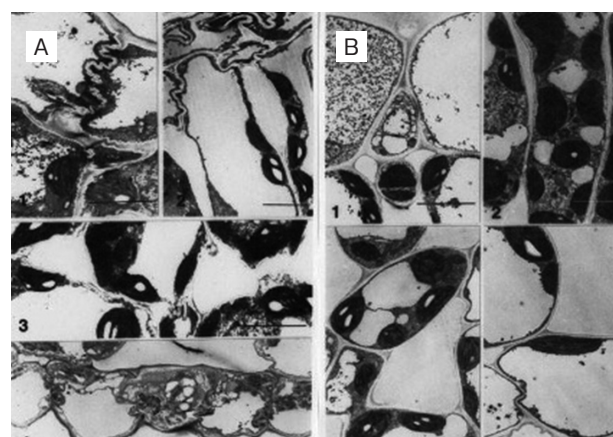


図6. ホップ健全葉(A)とHSVd罹病ホップ葉(B)1:上面表皮細胞,2:柵状組織,3:海綿状組織,4:下面表皮細胞 bar:1μm(Momma T. 1982)

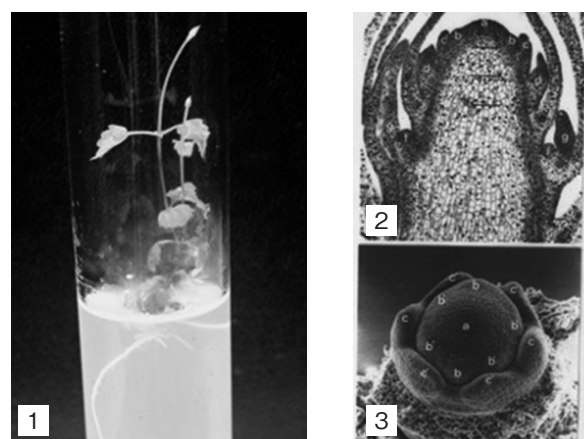


図7. 茎頂培養(発根個体)(1)と茎端の光学顕微鏡写真(2)bar:100μmと走査型電子顕微鏡写真(3)bar:50μm(Momma, T. 1982)

なとこに必要な量を供給することができるようにすることです。大量増殖する方法も試行錯誤でより短期間に、より変異の少ない苗を大量に生産できる技術ができたと思っています。苗条原基誘導法も変異のない植物を培養するには必要な技術の一つです。植物の増殖技術については、機会があれば別の所で詳しく述べたいと思います（図8、9）。

(4) ホップ樹脂含量の測定

私が、ホップの樹脂含量等を当時の最新技術を使って分析しはじめたのが、麒麟社・鏡石ホップ管理センターにいた時です（1982～1984年）。江刺の岩手ホップ管理センター配属になった時に集中的にホップ分析を中心に品質調査・分析等を行いました。岩手ホップ管理センターは、分析の得意な人が代々の技術を受け継ぎ、私もその時に技術を習得させていただき、麒麟社全体のホップ分析・品質管理を担当していました。ホップ矮化病に罹った株を発見してから（約20年ぶりの再発（第2次発生））、これは麒麟社保有品種のすべての矮化病検査を行った時、基礎実験を行った折にを見つけました。弘前大学佐野助教授（当時）が、麒麟社圃場の病害虫に関するアドバイザーをしていただいた関係でいち早く HSVd 感染株を発見できました。

収穫後のサンプルにおいて NIR（Near-Infrared

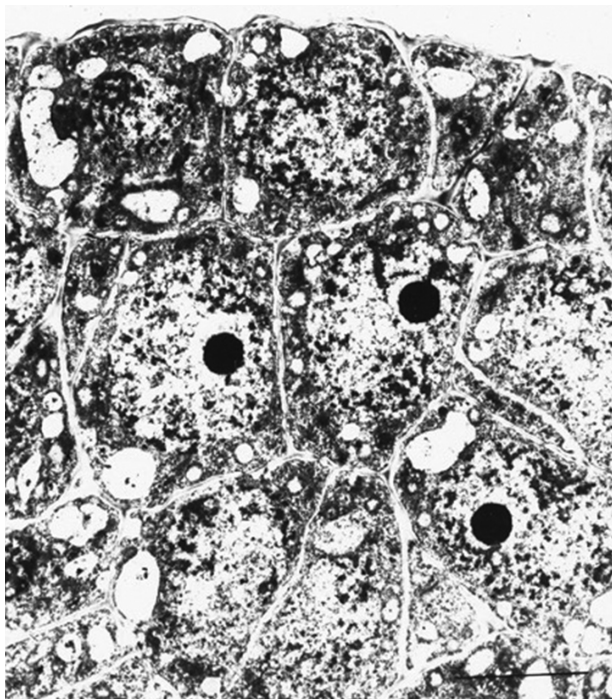


図8. ホップ茎頂分裂組織 bar: 5 μ m 細胞壁の異常形態、細胞小器官等の異常は見られない。(Momm, T. 1982)

Spectroscopy) 分析、あるいは α/β 比を測定することによって生産者のすべての圃場のデータから矮化病有無の判定を行い、疑わしいところは、ティッシュプロットハイブリダイゼーションを用いた検出（この技術は私がキクの矮化病を検定していた時に利用していました）を行い、HSVd に感染していないかどうかを調べていました。

(5) ホップ矮化病の対策（第2次発生）

1999～2006年、約20年ぶりにホップ矮化病の再発生を弘前大学佐野先生が麒麟ビール圃場で確認して、その調査に加わり調べてみるとかなりの範囲で感染が広がっていました。新しい手法（ティッシュプロットハイブリダイゼーション法）で、麒麟社内全圃場の調査を進めました。それぞれの組合にお願いして各圃場の株一つ一つのフィルターを作ってもらい、回収して麒麟社が検出、検定を

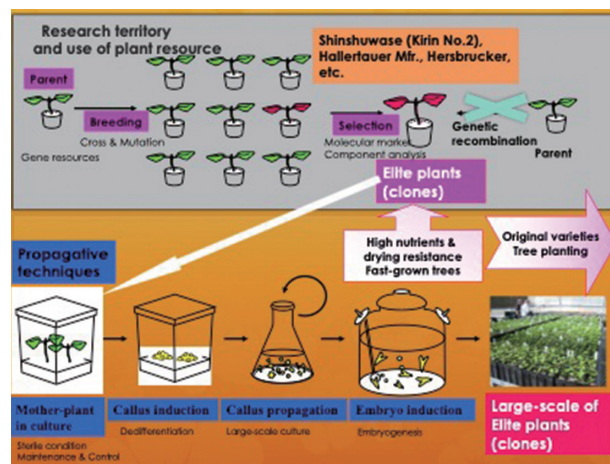


図9. ホップエリートクローンの作出と大量培養のフローチャート
Large-scaleのエリートクローンの装飾までの日数はそれぞれのポイントにおける日数によって3ヶ月以上かかる。

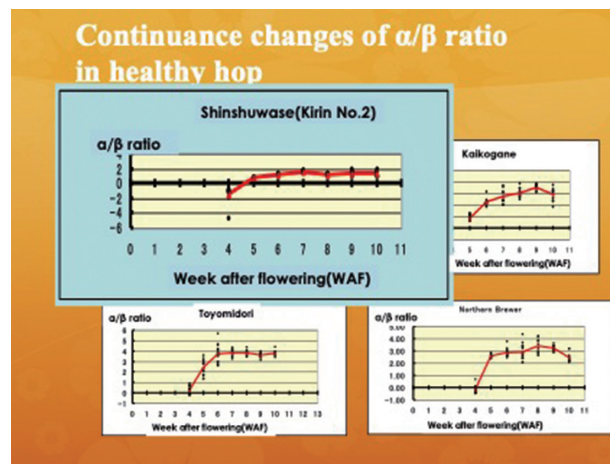


図10. 健全ホップの α/β の継時変化(縦軸: α/β 比、横軸:開花後の週数)
品種: 信州早稲(麒麟2号)、かいこがね、とよどり、Northern Brewer
縦軸: α/β 比、横軸: 開花後経過した週

2年間にわたり続けました。それによって、キリン社管内の全圃場の病気蔓延状況を理解し、全面改植、部分改植等の計画をたて、キリン社管内圃場のホップ矮化病を完全に終息させました。この時は、毎日出てくるデータをもとに会社担当者、弘前大学佐野先生と相談しながら休む暇もないほど働いた気がします。当時担当していたティッシュプロットフィルターの枚数が異常なほど多かったことを覚えています。毎日オートラジオグラフをとり、感染しているところに連絡し、株の抜き取り等を指示していました。抜き取った圃場の確認にも出かけていました。

この時に使っていた方法は、外観症状の観察、 α/β 比測定、ティッシュプロットハイブリダイゼーション法を用いたホップ矮化病対策マニュアルに書かれています(図10、11)。その後、このシステムに基づいて調査を続けていれば病気は発生していな

いはずでした。あれから20年を経過しているので十分な調査をしているとしたら、どこかで発生しているかもしれません。現在は、世界各国にHSVdの発生が見られ、少し前にHuell研究所(ドイツ)でHSVdの検出を行っているという話を聞いております(私信)。世界の交流が多くなっている現在、その国特有の病気も各国の植物防疫の努力にかかわらず他のところで増えていることは明白です。各国の植物防疫はしっかりしているので実際に検出されれば処分されるので入って来ないはずですが、検出限界以下の病原菌が入っている場合、その国に入ってから増殖し、蔓延する可能性があります。各国の植物防疫は大変な責務を負っているわけです。

(6) ホップの形質転換の試みと技術確立

①品種ごとの培地の違い

1992～1999年、キリンビール株式会社・基盤技術研究所(横浜・福浦)で、私は植物の形質転換を担当していました。1990～1992年、つくばの生物資源研究所(美濃部リーダーのもと)においてイネゲノム研究が始まった折に、企業側の参加の1人として参画した(イネゲノム研究1期生)後、キリン社・基盤技術研究所に戻りホップの形質転換から植物の組織培養による大量増殖技術を担当してきました。その時に確立した技術が、ジャガイモをはじめとするキリン社で扱っていた植物の組織培養、大量増殖技術でした。ホップの形質転換体を作成する技術もそのうちの一つになります。この技術を用いて複数のホップ品種の培養、形質転換マニュアルを作成しました(図12)。培養する時に、品種によって違いが出てくるので、異なった品種を使う場合は注意を要します。例えば、基本培地のMS培地(Murashige, T. and Skoog, F. 1962)を利用する時に、品種によってはシュークロースではなく、グルコースを使います。さらに、大量培養する場合には、固体ではなく液体培地を使う(液体培養も溶存酸素を送ること等)などの工夫が必要になります。

大量増殖をする方法は、別途その類の参考文献を読まれることを推奨します。

②ホップ葉、茎からの組織培養による個体作出

(i) ホップ組織からの培養による個体作出の条件

ホップ組織からの個体再生、形質転換体作出の方法は、それまでに作り出してきた他の作物(ジャガイモ、イネ、ニンジン等)の培養技術、形質転換技

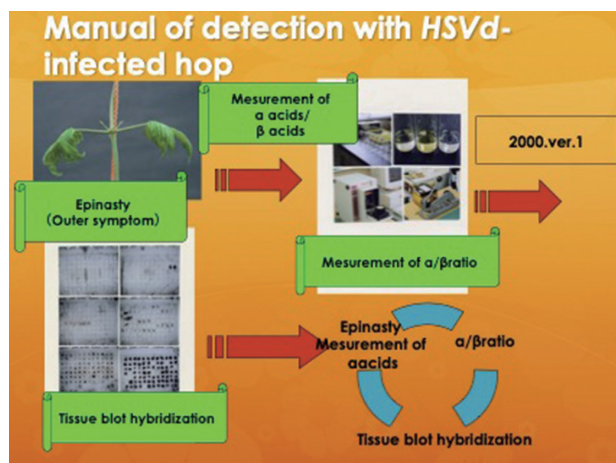


図11. ホップ矮化病対策マニュアル(改訂バージョン)
外観調査(エピナスティの有無、全体的な矮化症状等)、 α/β 比の測定(簡易吸光度法)、ティッシュプロットハイブリダイゼーション法を総合してホップ矮化病を診断する。



図12. ホップ形質転換体作出の手順
1: ホップ葉片・茎等、2: 分化培地上でのカルス形成、3: シュート形成培地上での培養、4: シュート形成、5: 順化、6: 鉢上げ、土壌に植えたホップ株(品種: きたみどり)

術を応用してそれぞれに合った条件を作り、各品種にも対応できるようにマニュアル化しました。ホップについては、条件検討を何度も加え、いくつかの品種ごとに培地組成、培養条件等を変えながら最適条件をつかんでいきました。これらの条件を大まかに見ると基本的には IAA（あるいは NAA）、BA の濃度を補正しながらカルス形成条件、細分化条件等が微妙に違っていることがわかります。条件検討は、研究室、備えている機器等によって変わるので、私が試した条件を一つ挙げておきます。使用しているオーキシシン類もこのほかに試してみるともっと良い条件が見つかるかもしれません（図 13）。

(ii) 発根条件と順化

ホップの発根は比較的簡単（リンゴのようなものでは品種によって難しい）ですが、ホルモンフリー培地上で 1～2 週間程度で発根します。場合によっては、BA を 1 ppm 程度加えることもあります。発根が確認されたら鹿沼土、あるいはパーミキュライト＋パーライトのような排水性の良い土壤に移植します。その後湿度を高めた順化床で土壤移植後の慣らしを行い、大きな鉢に植え付けるか温室、圃場に植え付けるかします。順化方法についてもいろいろな書物が出ていますので、そちらを参考にさせていただくと幸いです。こうしてできた培養個体も一つ一つが違った物と捉え、その後の観察を行った上で優良個体（Elite plants）の増殖を始めます。培養個体から実際に苗生産することは、初期の重要なポイントなので注意を要します。苗生産で販売を目的とする場合、適当なガラスハウス等の目的に応じた規模の生産場所を確保することも必要になります。これも実際に建築、販売している会社がいくつもある



図 13. シュートの再分化 IAA 0.1ppm, BA5ppm

るのでそちらに相談すれば差し障りのない程度に教えてくれると思います。組み換え体については、規制があるので、バイオハザード温室などの施設も必要になるので別途調べていただければ幸いです。

(7) 今後のホップ育種の展望

ホップ育種は、国内外を問わずにいろいろなところで行われ、現在世界に存在している品種が作られてきました。通常育種では、20 年以上育種を続けて品種を作り上げることを延々と繰り返してきたわけです。昨今いろいろな技術の進展があり、数年から十数年で品種を獲得することもできるようになりました（Watson, A., et al. 2018）。私もこれらの技術を使って品種を作る試みをしています。さらに、培養技術等も発展し、多くの栄養作物等で一つの有望品種が取れると大量に増殖することができる方法も発展してきました。ホップにおいても例外ではなく、従来の育種＋新しい育種（Watson, A., et al. 2018）という選択肢が増えたことはこの世界で研究をする身にとっては素晴らしいことだと考えます。今後も時代の流れに沿って、いろいろな技術を利用し新しいホップ品種を作っていきたいと考えています。以下の図に見られるのはホップ毬花（雌花）と雄花ですが、これらを使って育種をスタートしています。

現在 2010 年に信州早生♀株から♂花を作出し、その後育成した雄株を使い育種に使っています。さらに、Herzbrucker ♀×Shinshuwase ♂からの後代作出等も試みています。将来的には、これらの中から一つでも優秀なホップが取れることを期待しているところです。

ここでは述べる機会がありませんでしたが、現在ホップ栽培は 5 m という高所（High wirework）での収穫を余儀なくされていますが、2 m の高さで機械化も進んでいる状況がヨーロッパで出来上がっています。以前から日本にも低棚栽培（Low trellis）という方法はあったのですが、如何せん収量が低いということで発展しませんでした。昨今、イギリスで始まり、今ではヨーロッパに普及しつつある低棚栽培にあった品種の開発によって、2 m の高さで栽培でき機械化できるようになりました（図 17、Pokomy, J., et al. 2017）。収量も 5 m の高い棚で栽培された時と変わらないようです。今後の品種開発も注目されます。日本でも近い将来、この技術がホッ

プ栽培農家に行き渡ると革新的な方法になると思います。

(8) ホップの香気成分

ホップ葉と毬花中のフムロン類、ルプロン類は品種によってかなりの違いがあります (図 18)。必ずしも、量の多少によって決まる物ではなく、ビールに入った後の香味を制御するあたりの研究は難しいようです。今後、ビールの苦味、香味の関係を調べていくことは、ビール作りを進めていく上で重要な課題の一つでもあります。

世界中で作られているホップの主要品種もこれらを解析し、これらから新しい品種を作り出す時の重要なポイントの一つになります。最近、日本で作ら



図 14. ホップの雌♀ (1) と雄♂ (2) (品種: 信州早生)



図 15. 収穫後のホップ毬花 (1: 信州早生、2: Hersbrucker)

Selection & Nurture of hop plants from seeds

2010 Shinshuwa (Kirin No.2) ♀ X Shinshuwa (Kirin No.2) ♂
♀ 3 : ♂ 1

2012 Hallertauer Mfr. ♀ X Shinshuwa (Kirin No.2) ♂ 30
2013 Hallertauer Mfr. ♀ X Shinshuwa (Kirin No.2) ♂ 2

2012-2013
Hallertauer Mfr. ♀ X Shinshuwa (Kirin No.2) ♂
♀ 9 individuals : ♂ 3 individuals (2012)
→ ♀ 21 individuals : ♂ 3 individuals (2013)
6 individuals have no flower.

Finally I got ♀ 22 : ♂ 4 in 2015

1. Hallertauer Mfr. ♀ X Shinshuwa (Kirin No.2) ♂
2. Breeding of Elite clone in Shinshuwa (Kirin No.2)

図 16. 継代種子からのホップ植物体の選抜

れたホップ品種が、その当時日の目を見ずに放って置かれた品種がアメリカに渡りビール醸造に使われ、美味しいビールができることを知った大手ビール会社が販売しているビールも見られます。逆輸入ビールですね。このようにビールも嗜好品であり、使われるホップの品種が変わってくるので、世の中のニーズを捉えながら使用するホップの利用を考えていくことも重要なポイントです。ホップそのものではなく、ビールに対するニーズも見ながら何が今必要とされているのか等を先取りしていくことが商売にしていける上では大切なことです。

(9) ホップ種子の内部形態と発芽条件の検討

ホップの雌性性を研究する時に、ホップ種子の発芽条件等を検討し良い発芽条件を確立しておく必要があります。そこで予備実験として市販のホップ種子を使って発芽条件を検討しました (図 19)。ホップ種子の形態を観察し、3層の硬膜に囲まれている種子は通常では非常に発芽しにくい種子でした。細



図 17. Mobile hop picking machine HUN-30 in a low trellis system in the Saaz hop growing region (Pokomy, J. et al. 2017)

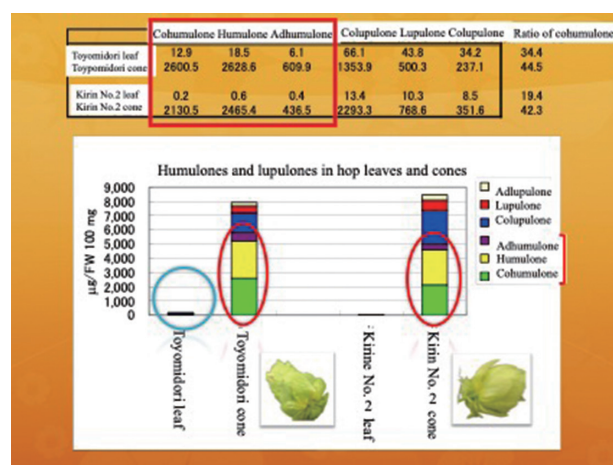


図 18. ホップ葉と毬花中のフムロン類、ルプロン類の含量 (とよみどり、信州早稲 (キリン2号))

胞膜を外したり、いろいろな培地条件を検討したりしながら、かなりの確率で発芽する条件を得ました。通常行っている発芽方法は、流水に一晩浸した後、濡れたティッシュに包み、種子を播くまで冷蔵庫で保存しておき、湿度の高い殺菌パーミキュライト等に播種し発芽させます。前者は、種子が貴重な時に使い、通常は後者で発芽するのが実用的かと思います。

4. おわりに

過去約 40 年を振り返って見るとそれぞれの時代に新しい技術が開発・応用されてきました。植物の世界で見つかったもの、あるいは作出された技術発見等が医薬等の世界でそれが発達、進化したものも数多くあります。その開発速度は年々速くなっているような気がします。40 年前には不可能とされていたものも技術開発が進み、普通にできるようになった技術も多くあります。現在では普通に行われ不思議に思わない研究者も多くなっていると思いますが…。例えば、ヨーロッパに行くのに飛行機を使ってアンカレッジ経由で 20 時間以上かかっていた頃に比べると現在では直行便でデュッセルドルフ（ドイツ）まで 12 時間くらいで行けてしまうのも科学の急速な発達があったからでしょう。将来的にはロケット技術が発達したおかげで、数十分で世界各国へ行ける時代になるという話もあります。この間、ヒトゲノムの完全構造解析（ベンターの偉業は、素晴らしいものでした）、イネゲノムの完全構造解析等大きな生物学のイベントがありました。今では、メタボロミクス、プロテオーム、トランスクリプトーム、コンピュータ解析等で当たり前解析できる時

代になっています。さらに、人間の脳を再現するプロジェクトも世界的なレベルで進んでいます。研究人口の多い動物ゲノム関連の仕事が論文数でも圧倒的に多い分野なので、当然研究の数、研究員の数等も世界の研究の主要なものになっています。しかし急ぐあまりに論文を詐称するようなことも身近で多く見てきました。私は、研究が一段落したらこれまでにあった自分の範疇の中でこの半世紀を自分とその周りの研究を総まとめしてみようと考えています。新たなホップの研究（育種）へ向けてです。これから先、どのように研究の発展があるのか分かりませんが、自分の半世紀について整理してみようと思っている時に日本曹達（株）さんからの原稿依頼でこのような機会を持つことができました。実データはもう少しあり、機会があればどこかですべて紹介することにします。ホップの関係論文等を読んでいただければ過去から現在までどのような研究がなされてきたのか見ることができます。論文だけではなく世界各国の新聞記事にも様々な情報が出ています。今、私が興味を持って始めていることは、ここにあげたホップの育種で世界に通用する品種を作り出すことです。どれくらいで自分の考えている品種ができるかはわかりません。後世に残り、世の中で使っていただけるような品種を目指しています。現在のホップとは全く違ったホップができるか、はたまた同じようなホップに終始するのか乞うご期待ですね。

謝辞

この研究を始めようと思ったきっかけとなった元岩手大学高橋壮教授、そして学位論文のもとになる研究をさせていただいた深澤親房先生、この研究を暖かい目で見守っていただいたキリンビール株式会社とその同僚の皆さん、その他関係した大学、機関等の皆さんの名前をすべてあげることは難しいので関係された方々にお礼を申し上げます。最後に、このような執筆の機会を与えていただいた日本曹達（株）さんにお礼申し上げます。

引用文献

- Neve, R.A., (1991). Hops, Capman and Hall, New York.
- Diener, T. O., (1979). Viroids and viroid diseases.

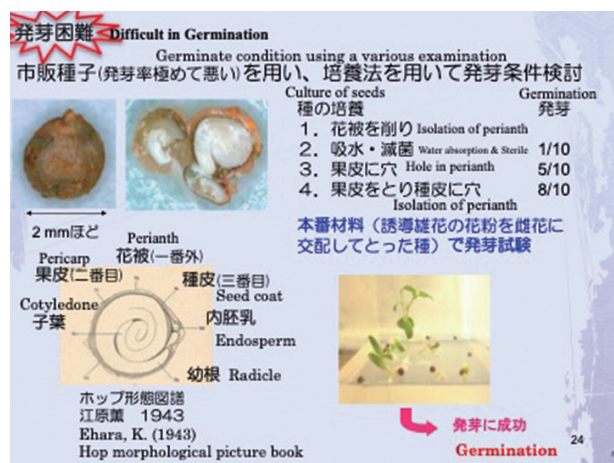


図 19. ホップ市販種子の内部形態、および発芽条件検討

John Wiley & Sons, Inc.

Ohno, T., et al., (1983). Hop stunt viroid: Molecular cloning and nucleotide sequence of the complementary cDNA copy. *Nucleic Acids Res.* 10: 7521-7529

Weston, E. W., (1960). Changes in sex in the hop caused by Plant Growth Substances. *Nature* 188, 81-82.

Momma, T. and Umemoto, N., (2013). International patent WO 2013/027659 AI.

Fukazawa, C., et al., (1985). Glycinin A3B4 mRNA: Cloning and sequencing of double-stranded cDNA complementary to a soybean storage protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 260 (10), 6234-6239.

門馬孝之, (1988). マックスプランク植物育種研究所 (ケルン) 化学と生物, 26(5), 338-342.

Stieger, M., et al., (1991). Self-assembly of immunoglobulins in the cytoplasm of the alga *Acetaburaria mediterranea*. *Plant Science*, 73, 181-190.

Kurata, N., et al., (1994). A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nature Genetics*, 8, 365-372.

Momma, T., (1989). "Analysis of soybean gene structure: Glycinin", Ph.D. thesis (a doctoral thesis) in Tohoku University December 14 (Japanese).

門馬孝之ら, (1990). グリシニン生産細胞及びグリシニン生産植物の育種方法並びに育種増殖方法 公開特許公報 (A) 平2-156889.

門馬孝之, (1990). ダイズグリシニン遺伝子の異種植物への導入と発現, *BRAIN テクノニュース*, 17, 1-15.

Momma, T., (1982). Study of *Hop stunt viroid* - Making of *Hop stunt viroid*-free Hop plants using apical meristem culture and ultrastructure of Hop stunt viroid, MS thesis in Iwate University March, (Japanese).

Momma, T. and Takahashi, T., (1982). Ultrastructure of *Hop stunt viroid*-infected leaf tissue, *Phytopath. Z.*, 104, 211-221.

Momma T. and Takahashi T., (1983). Cytopathology of shoot apical meristem of hop plants infected with *Hop stunt viroid*, *Phytopath. Z.*, 106, 272-280.

Momma T. and Takahashi T., (1984). Developmental morphology of *Hop stunt viroid*-infected hop plants and analysis of their cone yield, *Phytopath. Z.*, 110, 1-14.

Watson, A., et al., (2018). Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding, *Nature Plants*, 4, 23-29.

Tsurumaru Y., et al., (2011). HIPT-1, a membrane-bound prenyltransferase responsible for the biosynthesis of bitter acids in hops. *Biochem Biophys Res Com*, 417, 393-398.

Murashige, T. and Skoog, F., (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant*, 15: 473-497.

門馬孝之, 梅基直行, (2013). ホップ雌花の雄化誘導の発見 (Discovery of male flower induction from a hop gynoeocious plant), *日本植物生理学*.

門馬孝之, 岡村正愛, 百瀬真幸, 梅基直行, (2013). ホップ雌花から誘導した雄花を用いた交配 (Crossing using male flowers induced on a female plant of hop), *日本農芸化学会*.

Pokomy, J. et al., (2017). Mobile hop picking and a new cleaning line for low trellis hops in the Czech Republic. I.H.G.C., Proceedings of the Scientific-Technical Commission St. Stefan am Walde, Austria 25-29 June 2017 p33-36.

参考文献

Burgess, A.H. (ed.), (1964). Hops. Leonard Hill, London.

最新バイオテクノロジー全書② 野菜の組織培養・細胞培養と増殖, (1990). 最新バイオテクノロジー全書編集委員会編, 農業図書.

Natsume, S., et al., (2014). The Draft Genome of Hop, *Plant Cell Physiol*, 56(3), 428-441.

Nagel, J., et al., (2008). EST analysis of hop glandular trichomes identifies an O-methyltransferase that catalyzes the biosynthesis of xanthohumol, *The Plant Cell*, 20(1), 186-200.

Wang, G., et al., (2008). Terpene biosynthesis in glandular trichomes of hop, *Plant Physiol*, 148(3), 1254-1266.