

# BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

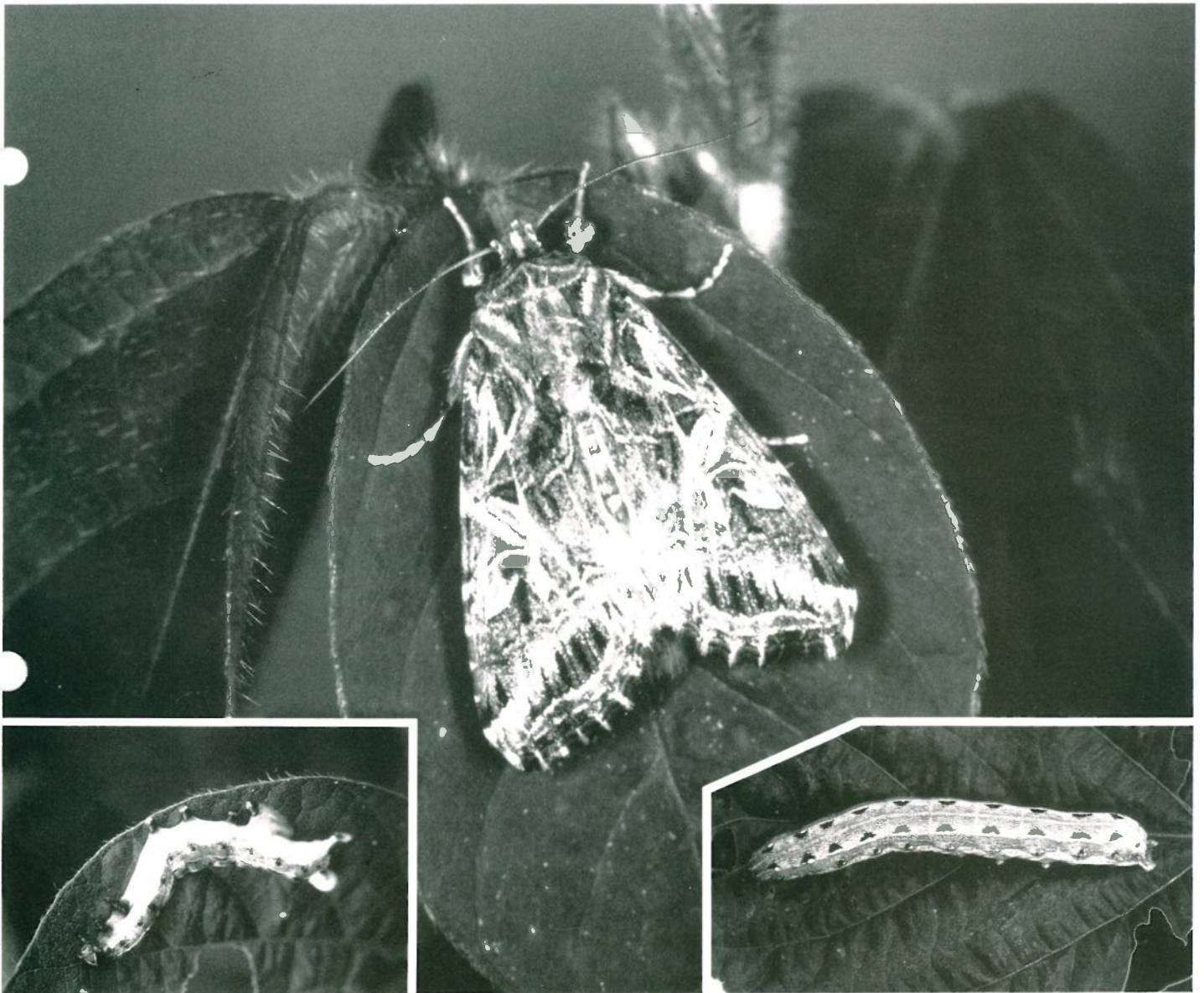
TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

## 創 刊 号

SEPTEMBER 20, 1987



ハスモンヨトウの成虫と幼虫（右下）および核多角体病ウイルスによって死亡した幼虫（左下）  
（本文6ページ参照）

### 本号の紙面

国内情報	1
畜産, 植物育種, 病虫害防除	
文献情報	14
外国特派員便り	23
特別情報	25
お知らせ	28

口 絵

国内情報

- マウスで確認されたキメラ性のヘテロシス効果…………… 1
- 抑臭大豆の育成…………… 3
- 天敵微生物利用による害虫防除——ハスモンヨトウ…………… 6
- 作物のウイルス病防除に関するバイオテクノロジー  
—弱毒ウイルスと形質転換植物…………… 9
- ブドウにおける embryogenic callus の開発…………… 12

文献情報

- 遺伝子組換えによる耐虫性植物の作出…………… 14
- マイクロインジェクション法を用いた染色体導入による形質転換…………… 15
- ダイズの初生葉カルスからの再分化…………… 16
- 糸状菌 *Aspergillus nidulans* による異種タンパク質の生産…………… 17
- パパイヤのクローン増殖のための側芽培養…………… 18
- モモの *in vitro* 増殖と発根に及ぼす諸要因…………… 19
- 体細胞胚形成を経由した野生稻の完熟種子及び幼花序からの植物体再生…………… 21

外国特派員便り

- BIOEXPO 87とフランス農業…………… 23

特別情報

- 第6回国際植物培養学会より  
水稲・大麦・小麦・大豆の研究進捗状況…………… 25

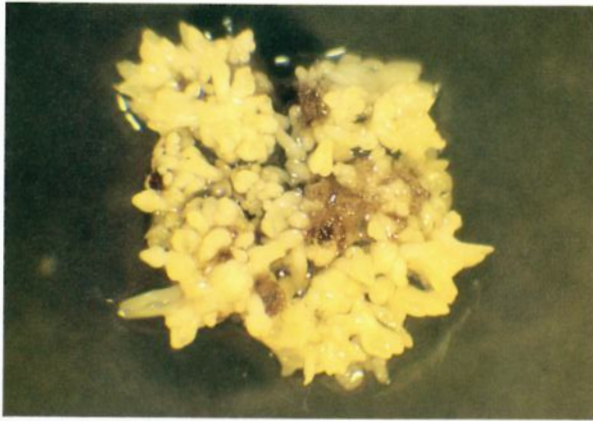
お知らせ

- BRAIN テクノフォーラム「昆虫の生体情報に学ぶ新技術」  
開催のご案内ほか…………… 28

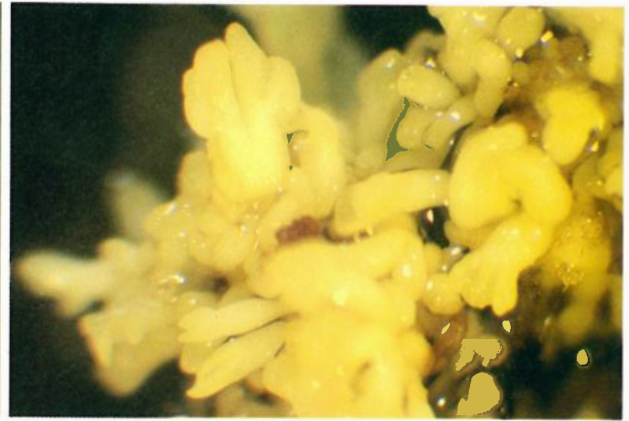




畜試で作られた  
凝集キメラマウス。  
(本文1ページ参照)



ホルモンフリー培地に移植して約1ヵ月後の状態。  
多数の不定胚が形成されている。(本文12ページ参照)



拡大してみるといろいろなステージの不定胚が観察されるが、  
早いものでは子葉の分化がみられる。(本文12ページ参照)



ハスモンヨトウの食害によって緑を失ったダイズ畑(左)と核多角体病ウイルスの散布によって被害をまぬがれたダイズ畑(右)。  
(本文6ページ参照)

## 国内情報

## マウスで確認されたキメラ性のヘテロシス効果

農林水産省畜産試験場

三上仁志

キメラとは、複合動物という意味で、今日では、2個以上の胚、あるいは3個以上の配偶子の結合に由来するため、遺伝的に異なる細胞集団から構成された動物または植物個体を示すのに使われる。

マウスでは、1961、62年に Tarkowski<sup>1)</sup> と Minz<sup>2)</sup> により、それぞれの母親から取り出した1対の初期胚を密着させ *in vitro* で培養し、凝集した胚を養母マウスの子宮へ移植して、キメラ個体を得る方法が開発された。このようにして作られたキメラの体では、遺伝的に異なる2種の細胞が共存し、融合はしていない。例えば、黒と白のマウスの胚を凝集して作ったキメラの皮膚は、黒いマウスの細胞集団と白いマウスの細胞集団が混じり合い、黒と白とのモザイク模様となる。

従って、交配により作られた雑種は細胞の核内の染色体のレベルで、すなわち遺伝子のレベルで雑種となっているが、キメラでは細胞のレベルで雑種となっていると考えられる。このような異なる細胞の混在が、その個体の生理的適応性にどのような影響をあたえるであろうか。

古くから、通常の雑種に、動植物を問わず、ヘテロシス（雑種強勢）が発現することはよく知られ、現在の農業生産に幅広く利用されている。このような現象が、キメラにも見られるであろうか。McLaren<sup>3)</sup> は、キメラマウスが一般に強健であるとし、それが“栄養雑種強勢”によっている可能性があると言明した。しかし、ヘテロシスが発現するのは量的形質であり、統計的な検討が加えられるほど多くのキメラを用意することは難しく、Falconerら<sup>4)</sup> は、1981年に初めて体重でキメラ性のヘテロシスを報告したが、データが不備なため明確な結論を出すには至らな

った。

我々の試験場では、1982年より簡易にキメラマウスを作製する方法の開発<sup>5)</sup> に務め、これまでに数多くの個体を用いてキメラ性のヘテロシスについて研究を進めてきた。

## 1. 試験に用いたキメラマウス

用いた系統は、黒色のC57BLと白色のBALBで、両者の8細胞期の胚を凝集させ、胚盤胞まで培養したキメラ胚をICR系の擬妊娠マウスに移植してキメラを得た。

キメラ胚の移植により生まれた産子は全てがキメラとはならない。片方の胚由来の細胞が、発生の過程で排除されることがしばしば起こり、キメラでない個体も生じる。その率は用いる系統の組み合わせに左右されると言われている。本研究の最初のシリーズで生まれた87匹の子のうち、毛色からキメラと判定されたのは73匹であった。単色毛のマウスは試験に用いなかったが、屠殺後の10の臓器のGPI (glucose phosphate isomerase) アイソザイム分析によっても、キメラという証拠は得られなかった。GPIには電気泳動で区別の出来るA型とB型とがあり、両者の活性が等しいこと、遺伝様式が共優勢であること、全ての組織に広く分布していることからキメラの細胞の混合割合を推定するのに一般に用いられている。

73匹のキメラのうち、45匹が雄で、性比の偏りは明らかであった。これは雄の胚と雌の胚との凝集による性キメラは原則として雄となるためである。この興味ある現象からキメラマウスは性の分化の研究に広く用いられてきた。性キメラの雌雄同体となる率は低く、本シリーズでも見られなかった。しかし、性染色体の分析により、性キメラと判定された



個体の中には精巣が小さく、雄としての繁殖力が低いものが見られた<sup>6)</sup>。

2. 繁殖能力でのキメラ性ヘテロシス<sup>7)</sup>

雌キメラは構成系統(C57BL, BALB)とそのF<sub>1</sub>とともに8週齢でICR雄マウスと同居させ、5カ月間、5産次までの産子数を調べた。結果は表1に示した。C57BLとBALBの1腹平均産子数はそれぞれ8.1と9.4であるが、F<sub>1</sub>は13.4と構成系統平均の53%ものヘテロシスを示した。キメラの産子数は、平均で11.5とF<sub>1</sub>には及ばなかったが、構成系統より明らかに多く、繁殖能力でのキメラ性のヘテロシス効果が初めて明らかとなった。

前述のように、キメラの細胞は混存しているのであって、融合はしていない。この事は生殖細胞にも当てはまることであり、キメラの卵子や精子は構成系統のいずれかに“純

粋”に由来しており、キメラは完全に一代限りのものである。アルビノのICRの雄を交配しているため、子の毛色からその子の基となった卵子がC57BL由来かBALB由来か簡単に判定できる。黒の子なら前者、白なら後者由来となる。このようにして、そのキメラがどちら由来の卵子を産したか調べると、構成系統両方の卵子を産する者(混合子孫型)といずれか一方の卵子しか産しないもの(単一子孫型)とがあることが判る。すなわち、体細胞はキメラでも生殖細胞はキメラでない個体が有り、この試験に用いた27匹の雌では9匹が単一子孫型キメラであった。

先のキメラの産子数をこの混合型と単一型キメラとに分けて平均値を求めると、

混合子孫型キメラ……12.6  
単一子孫型キメラ……9.2

となり、明らかな差があった。この差の直接の原因はなんであろうか。

混合型の産子の38%がBALB由来で、やや偏りが見られたが、一方の系統由来の子が多ければ、その腹の産子数が多くなるという傾向は見られなかった。次に、混合型での子の毛色から推定した卵子のキメラの程度と産子数との関係を図1に示した。この図では、キメラの程度を、占める割合が少ない方の系統の割合(%)で表した。すなわち、50%が最もキメラの程度が高い状態を示し、0%はキメラでないことを示す。図から明らかなように、卵子のキメラの程度は産子数に関係ない。

次に、卵巢のキメラの程度と産子数との関係を同様に図2に示した。キメラの程度は前述のGPI分析に拠っている。産子数はキメラの程度が低くなるに伴い、直線的に低下した。他の臓器でも同様の傾向が見られたが、卵巢ほど明らかでなかった。因みに、単一子孫型の各種臓器のキメラの程度は、卵巢を含め一般に極めて低かった。

卵巢の細胞の大部分が体細胞であることを考えると、キメラの産子数が増えるのは卵子間の相互作用でなく、卵子を取り囲む顆粒細胞などの体細胞間、または体細胞と卵子間の相互作用によるのではないかと考えられる。産子数での通常のヘテロシスが子より母の

表1 キメラマウスと構成系統およびF<sub>1</sub>の産子数 (Mikami & Onishi, 1985)

母	母の数	腹の数	平均産子数	ヘテロシス
キメラ	27	125	11.54	31.9%
F <sub>1</sub>	50	243	13.39	53.0
C57BL	22	87	8.14	
BALB	23	107	9.36	

図1 子供の毛色から推定した卵子のキメラの程度と産子数との関係 (Mikami & Onishi, 1985)

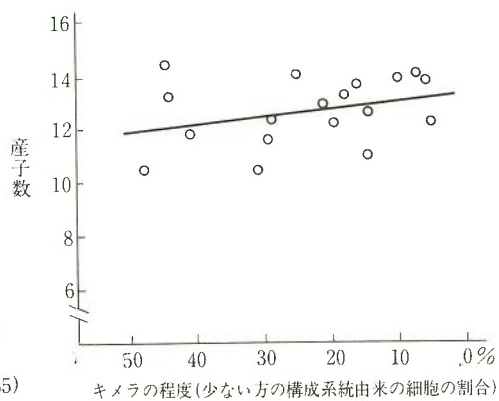
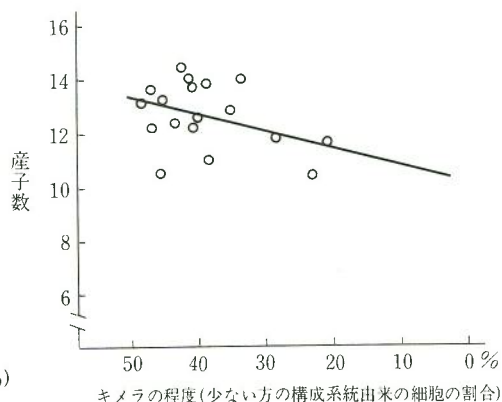


図2 GPI分析により推定した卵巢のキメラの程度と産子数との関係 (Mikami & Onishi, 1985)



雑種性に拠るところが大きいことと共通する現象である。

### 3. 発育でのキメラ性ヘテロシス<sup>9)</sup>

次に、8週齢体重におけるヘテロシス効果について調べた(表2)。F<sub>1</sub>のヘテロシスが雄で19.3、雌で11.4%、キメラではそれぞれ16.4と11.9%と、産子数での結果と比較して両者の値は近似していた。

調査した10の臓器の何れにおいても、キメラの程度が高くなると体重が増加する傾向が認められ、発育においても遺伝的に異なる2種の細胞の混在によりキメラ性のヘテロシスが生じていることを示した。

#### おわりに

現段階において、キメラ性のヘテロシスは産業上の利用価値は全く持っていない。しかし、遺伝子のヘテロ性に起因するヘテロシス効果と少なくとも表面的に等しい現象を、発生過程での簡単な操作により起こすことが出来たことは、“雑種がなぜ強健なのか?”という古くからの疑問に答え、ヘテロシスをより有効に利用するための新しい研究材料が得られたと考えている。

具体的な将来の研究内容にふれるだけの紙面の余裕を持たないが。例えば、我々の研究室では、A系とB系のF<sub>1</sub>の胚とC系とD系のF<sub>1</sub>の胚とを凝集させ、遺伝子のヘテロ性

表2 キメラマウスと構成系統およびF<sub>1</sub>の8週齢体重 (Onishi & Mikami, 1987)

	♂			♀		
	数	平均体重	ヘテロシス	数	平均体重	ヘテロシス
キメラ	42	31.6g	16.4%	31	23.8g	11.9%
F <sub>1</sub>	63	32.4	19.3	50	23.6	11.4
C57BL	31	27.3		25	21.4	
BALB	32	27.1		25	21.0	

によるヘテロシスに更にキメラ性のヘテロシスを上乗せして、キメラにF<sub>1</sub>以上の能力を賦与出来るかいなを試みている。このような従来の交雑では考えられなかった発想による研究がキメラの利用によって可能となった。

#### 文 献

- 1) Tarkowski, A. K. (1961) *Nature* 190 : 857-860
- 2) Minz, B. (1962) *Amer. Zool.* 2 : 432
- 3) McLaren, A. (1978) *Mammalian Chimaeras*, Cambridge, London & New York, Cambridge University Press
- 4) Falconer, D. S., Gauld, I. K., Roberts, R. C. & Williams, D. A. (1981) *Genet. Res.* 38 : 25-46
- 5) Awata, T., Onishi A. & Muramatsu S. (1984) *Proc. Japan Acad.*, 60(B):253-256
- 6) 大西 彰・三上仁志 (1985) 実験動物 34 : 253-256
- 7) Mikami H. & Onishi A. (1985) *Genet. Res.* 46 : 85-94
- 8) Onishi A. & Mikami H. (1987) *Jpn. J. Zootech. Sci.* 58 : 259-265

#### 国内情報

## 抑臭大豆の育成

農林水産省農業研究センター

喜多村啓介

#### はじめに

近年、国内の大豆生産は転換畑での作付けと単収向上により我国の食品用大豆全体(約80万t)の約3割を占めるようになった。それに伴い、国産大豆には輸入大豆以上に加

工向け品質の優秀性が求められるようになってきた。

大豆の加工向け品質は食品用途別に異なりいくつかの要因が関係しているが、なかでも最も注目される要因は、大部分の大豆蛋白食品の製造過程にとって大きなあい路となつて

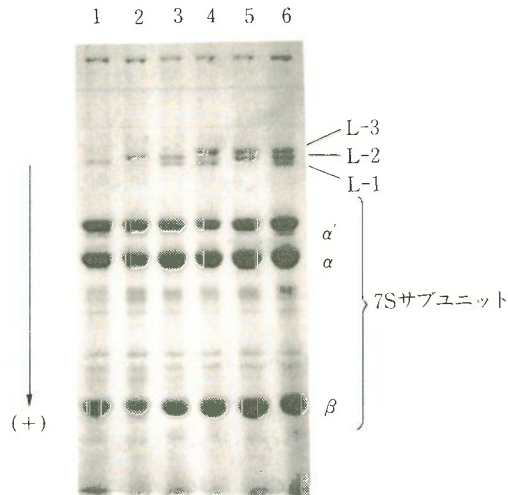


図1 改良SDS-PAGEによる大豆抽出液のリポキシゲナーゼの分離

- 1 L-2・L-3同時欠失大豆
- 2 L-1・L-3同時欠失大豆
- 3 早生夏(L-3欠)
- 4 PI86023(L-2欠)
- 5 PI408251(L-1欠)
- 6 スズタカ(普通大豆)

いる不快な青豆臭発生に關与するリポキシゲナーゼの作用である。

青臭みの原因となる主化合物は、種子中のリポキシゲナーゼ(L-1, L-2, L-3)の脂質酸化に伴ない生成するヘキサナールやヘキセナールなどの中鎖アルデヒド類であると考えられている<sup>1)</sup>。生成したアルデヒド類は大豆蛋白質と強く結合するため、これらの化合物を除去することが困難となり、いわゆるオフフレーバーのような敬遠される臭味を生み出す原因となっている。

現在、食品工業的には主として加熱処理で青豆臭発生を防止する方法がとられている。しかし、加熱処理は同時に大豆蛋白質の変性・不溶化を招くため、重要な食品加工上の機能特性である保水性や粘着性を損う可能性がある。

また、有機溶媒による青豆臭の抽出除去やアルデヒド脱水素酵素による分解などの処理では脱臭が完全でないことや経済的問題等があり実用化までに至っていない。

最近、日米における精力的な研究から本酵素活性を遺伝育種的に制御することが可能となり、大豆のもつ青豆臭の問題を抜本的に解決できる可能性が示された<sup>2)</sup>。

## 1. リポキシゲナーゼ欠失変異体の発見と欠失性の遺伝様式

イリノイ大学の Hildebrand & Hymowitz (1980) はアメリカ農務省保存の約6,000品種のL-1(pH 9付近に特異的な強い活性を有す)活性を測定することにより、L-1活性を完全に欠くPI133226とPI408251の2品種を見出した<sup>3)</sup>。これら2品種のL-1欠失性は単一の劣性遺伝子によって支配されることが示されている。

L-3欠<sup>4)</sup>およびL-2欠<sup>5)</sup>各変異体大豆は、喜多村らによって各々、1980年および1982年に発見された。すなわち、喜多村らは Laemmler系 SDS-ゲル電気泳動法を一部改良することにより、3種の酵素(L-1, L-2, L-3)をわずかに移動度の異なる3本のバンドとして分離・検出する方法を確立し(図1)、本法を用いて国の内外約5,000品種を分析した。検索により、L-3を欠く早生夏と一号早生の2品種、およびL-2を欠くPI86023品種を見出した。L-3欠失性およびL-2欠失性は、各々別座の単一の劣性遺伝子によって支配されていることが示されている<sup>6)</sup>。

L-1欠失性とL-3欠失性およびL-2欠失性とL-3欠失性は各々独立遺伝し、L-1・L-3同時欠失およびL-2・L-3同時欠失大豆はほぼ期待数得られる(表1)が、L-1・L-2同時欠失大豆は未だ1個体も得られていない。L-1欠×L-2欠大豆の交雑F<sub>2</sub>およびF<sub>3</sub>種子のこれまでの分析結果から、L-1・L-2同時欠失大豆が出現しない原因は、L-1支配座とL-2支配座が遺伝的に強連鎖していることにあると結論されている<sup>7)</sup>。現在、放射線育種場との共同研究として、L-1欠、L-2欠スズタカ準同質大豆系統にγ線照射処理を行うことにより、L-1・L-2同時欠失大豆を作出することを試みている。

なお、種子リポキシゲナーゼと葉や根などに含まれ生理的に重要な働きを持つリポキシゲナーゼとは遺伝的支配が全く異なり、これらの組織においては種子酵素欠失大豆は普通大豆と同レベルのリポキシゲナーゼ活性を有することが示されている<sup>8)</sup>。

## 2. 実用的な抑臭大豆の育種

これらの欠失遺伝子を用いて実用的な抑臭大豆を育成するためには、本酵素欠失性が収量性や他の子実成分および病害虫抵抗性など農業上重要な形質に悪影響しないはっきりした見通しが必要である。この見通しを得るため、わが国の代表的な実用品種の一つであるスズユタカを反復親として戻し交配と本酵素欠失性に関しての選抜を繰り返すことによってBC<sub>3</sub>ないしBC<sub>4</sub>代の本酵素欠失スズユタカ準同質系統を育成し、これらの各欠失系統を用いた比較栽培試験（各系統20個体、2反復）を1986年に岩手大学圃場（盛岡）および生物資源研究所圃場（筑波）で行った<sup>9)</sup>。

主な形質について盛岡で調査した結果を表2に示した。分散分析の結果、反復試験区による個体の平均種子重量（個体当りの子実収量）に比較的大きな差異が認められたが、調査したいずれの形質においても系統間による有意（5%水準）な差異は認められなかった。また、発芽期、開花期および登熟期を通じて、これらの系統間に特に問題となる栽培・生理上の差異は認められなかった。さらに、病害虫による障害程度においても系統間に差異は認められなかった。筑波における栽培試験でも同様の結果が得られている。

現在、昨年選抜して得たBC<sub>4</sub>F<sub>4</sub>代のL-1・L-3同時欠失およびL-2・L-3同時欠失スズユタカ系統、各々約500個体を農研センターの圃場にて均一栽培している。8月中旬現在、生育は順調である。

これらの結果から判断して、種子リポキシゲナーゼ欠失遺伝子を用いた大豆の品質改良——実用的な抑臭大豆品種の育種——は十分可能であると考えられる。現在、筆者の所属する研究室では、エンレイ、タマホマレ、フクユタカなどわが国の代表的な大豆品種へのリポキシゲナーゼ欠失遺伝子の導入を精力的に進めている。

## おわりに

青臭み発生に関与するリポキシゲナーゼを完全に欠く3重欠失大豆は得られていない。

表1 L-1, L-2, L-3の存在に関するL-1・L-3同時欠失体×L-2欠失体大豆のF<sub>2</sub>種子分離

酵素の有無			種子数 観察値(期待値)	$\chi^2$ 値 (9:3:3:1)	確率 P
L-1	L-2	L-3			
+	+		92(88.31)	0.154	10.458 P<0.01
+	-		29(29.44)	0.007	
-	+		36(29.44)	1.462	
-	-		0(9.81)	8.835*	
	+	+	99(88.31)	1.294	4.338 P>0.2
	+	-	29(29.44)	0.007	
	-	+	20(29.44)	3.027	
	-	-	9(9.81)	0.010*	
+		+	89(88.31)	0.005	1.356 P>0.5
+		-	32(29.44)	0.223	
-		+	30(29.44)	0.011	
-		-	6(8.91)	1.117*	

\* Yates 補正

しかし、青臭み発生に最も強く関与するL-2<sup>10)</sup>とL-3を同時に欠く大豆では青臭みがほとんどないこと、またL-2は特に熱失活され易い酵素であり、L-1・L-3同時欠失大豆は比較的温和な熱処理で簡単に無臭化できることから、これら2種類の2重欠失大豆でもって種々の有効利用が達成できると考えている。

実際に、L-2・L-3同時欠失大豆で調製した豆乳には青臭みがほとんどない。現在、大豆蛋白質は栄養補強や価格低減のため小麦製品（パン、麺）や肉製品（ハム、ハンバーグ）等に添加されている。豆臭の少ない豆乳は、これらの食品添加材としての優れた原料となり得る。また、L-2・L-3同時欠失大豆には、国産大豆の用途別使用量として最も多い豆腐の原料としても優れた面が確認されている。すなわち、豆腐の味覚は大豆の旨みと凝固剤として用いるにがりによりもたらされる味にあると云われているが、豆臭の少ない豆乳を

表2 リポキシゲナーゼ欠失スズユタカ準同質系統の各形質の個体当りの平均値\*

品種・系統	開花期 (月,日)	成熟期 (月,日)	主茎長 (cm)	子実重 (g)	百粒重 (g)	蛋白質 (%)	脂肪 (%)
スズユタカ	8.9	10.15	87.2	39.2	24.0	40.6	20.5
L-1 欠	.11	.22	96.5	40.5	23.6	42.0	19.3
L-2 欠	.10	.22	98.5	39.3	22.7	39.6	20.5
L-3 欠	.9	.15	94.5	33.8	21.3	40.5	20.3
L-1・3欠	.12	.19	95.7	37.2	23.3	42.4	19.7
L-2・3欠	.9	.14	86.6	37.1	22.6	41.1	20.3

\*各系統20個体、2反復（岩手大学農学部圃場、1986年）



用いれば少ないにがり量でもって豆腐の旨みを引き出すことができる(太子食品工業<青森県三戸市>研究部のデータ)とのことである。にがり量の低減は、豆腐の凝固速度を制御することを可能とし、工業的規模での良質な豆腐製造にとって大きなメリットをもたらすものである。

リポキシゲナーゼは大豆製油工程においても問題となっており、油抽出前の熱処理で本酵素による油脂の酸化劣化を抑えている。L-1・L-3同時欠失大豆を原料として用いば適度の加熱処理で本酵素活性を完全に抑えることが可能となり、栄養価の高い大豆油粕(動物飼料用)や利用価値が高い脱脂大豆(加工蛋白食品用)を製油の副産物として生み出すことができるものと期待される。さらに、本酵素欠失大豆は、丸大豆および粉碎大豆粉の貯蔵中の過酸化物の蓄積が少ないことから貯蔵・輸送中の品質劣化を防ぐ面から、また種子の寿命維持の面からも利点を有していると思われる。

今後はさらに、苦味・収斂味など不快味成分として大豆配糖体<sup>11)</sup>の除去、加工適性に密接に関係する高タンパク性や高11S蛋白質性などの良形質等とリポキシゲナーゼ欠失性を組み合わせることにより、大豆蛋白食品の素材として理想的な加工適性を有する大豆を育

成してゆきたいと考えている。

本稿を執筆するにあたり、大変有意義なご助言を頂いた農業研究センター作物第一部長橋本綱二博士に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 佐々木隆造, 千葉英雄(1983) 化学と生物, 21: 536-543
- 2) 喜多村啓介(1984) 日本食品工業学会誌 31: 751-758; 喜多村啓介, 橋本綱二(1985) 大豆月報 11: 4-9
- 3) Hildebrand, D.F. & T. Hymowitz, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58: 583-586(1981); *Crop Science* 22: 851-853 (1982)
- 4) Kitamura, K., C.S. Davies, N. Kaizuma & N. C. Nielsen (1984) *Crop Science* 23: 924-927
- 5) Kitamura, K. (1984) *Agric. Biol. Chem.* 48: 2339-2345
- 6) Kitamura, K., T. Kumagai & A. Kikuchi (1985) *Japan. J. Breed.* 35: 413-420
- 7) 菊池彰夫, 喜多村啓介(1985) 育種学雑誌, 35(別冊1): 300-301; D. A. Veis C. S. & N. C. Nielsen (1986) *Crop Science* 26: 460-462
- 8) 喜多村啓介(1987) 化学と生物 25: 190-197
- 9) Kitamura, K., A. Kikuchi & K. Harada (1987) *Soybean Genetics Newsletter*, 14: 109-112
- 10) Matoba, T., H. Hidaka, H. Narita, K. Kitamura, N. Kaizuma & M. Kito (1985) *J. Agric. Food Chem.* 33: 852-855
- 11) 大久保一良(1984) 化学と生物 22: 11-14

## 国内情報

# 天敵微生物利用による害虫防除—ハスモンヨトウ—

農林水産省農業研究センター

岡田 齊夫

## はじめに

ハスモンヨトウは温帯から熱帯にいたる広大な地域で各種作物、野菜、花卉、果樹など80種以上の植物を加害する。1年に4回程度発生し世代の経過とともに密度が上昇して、夏から秋に作物に甚大な被害を発生させる。

8月下旬からは連続的に発生するために、合成殺虫剤では数回の散布によっても防除が困難である。

また昭和40年以降、合成殺虫剤による害虫防除は各種の問題を生じさせた。このため天敵微生物による防除の研究を行った。

### 1. ハスモンヨトウに有効な天敵微生物

各種天敵微生物のハスモンヨトウに対する病原性試験の結果、数種ヨトウムシの核多角体病ウイルス、*Bacillus thuringiensis*、緑蘆病菌、*Nosema* sp. などが病原性を示した。これらの天敵微生物のうちハスモンヨトウの核多角体病ウイルス (*SlNPV*) の病原性が最も高かった。

### 2. *SlNPV* のハスモンヨトウに対する病原性

*SlNPV* は若齢幼虫に対する病原性が高く、4 齢以降の幼虫には病原性が低下する。35℃までは高温で *SlNPV* の病原性が高く、潜伏期間が短縮される。湿度は *SlNPV* の病原性に関与しない。各種寄主植物葉育および人工飼料育幼虫の *SlNPV* 感受性に差はない。静岡県から奄美大島に至る各地産ハスモンヨトウ幼虫の *SlNPV* 感受性に差がない。また小笠原、千葉県以西の各地産 *SlNPVs* およびエジプト産 *SlNPV* (*S. littoralis* NPV) のハスモンヨトウに対する病原性に差がない。

### 3. *SlNPV* のハスモンヨトウ防除効果

*SlNPV* 液剤は若齢幼虫を主体とした個体群に対しては  $3 \times 10^{10}$  多角体/10 a (3.9LE = *SlNPV* による 6 齢病死虫 3.9 個体から得られる多角体量) の散布で 90% 程度の死亡率が得られる。中老齢幼虫を主体とする個体群に対して十分な効果を得るには  $3 \times 10^{11}$  多角体/10 a (39LE) の散布が必要である。

*SlNPV* 液剤の通常散布 (100 l/10 a)、ミスト散布 (10~20 l/10 a) および微量散布 (0.2~0.5 l/10 a) の防除効果を、単位面積あたりの散布多角体数を同一にして比較すると、高濃度液を少量散布する方法で効果が高い。

*SlNPV* の致死濃度の多角体を添食した 1 齢幼虫の食害量は、幼虫期間中の全食害量の 0.5%、2 齢幼虫は 1.5%、3 齢幼虫 5.8%、4 齢幼虫 25.1% と幼虫齢の経過とともに急増し、若齢期防除が重要である。圃場における

食害防止効果試験では、若齢幼虫を対象とした場合、対照区では幼虫が作物を食い尽くして区外に移動するほどの大発生でも、 $1 \times 10^{11}$  多角体/10 a 散布で食害量を 10% 程度に抑えた。

### 4. *SlNPV* の安定性

*SlNPV* は 25℃では半年間、5℃では 1 年以上の間、活性の低下はみられない。凍結保存では数年間にわたって安定である。

*SlNPV* 精製多角体は太陽光線による不活化が早く、葉表面では 3 時間の照射によって感染力は 1/2 に低下する。葉裏面ではその 5 倍余の活性を持続する。*SlNPV* 液剤の単位面積あたりの散布多角体量を同一にすると、通常散布は散布 2 日後に、ミスト散布は 10 日後に葉面の感染力は 1/2 以下に低下するが、微量散布のそれは 25 日後で、高濃度液の少量散布で残効も長い。多角体懸濁液にカーボンを、液量の 0.1~1% 相当量を添加することによって、散布時の活性が 20 日程度持続する。

通常散布、ミスト散布および微量散布によってダイズ葉に散布された *SlNPV* は降雨による感染力の低下は少ない。

### 5. *SlNPV* のハスモンヨトウ防除効果の持続

*SlNPV* の通常散布は 10 日後に、ミスト散布は 25 日後に失活しているので、後世代へは病死虫が生産したウイルスの効果が大きい。微量散布は 30 日後でも約 30% の死亡率が得られるので、散布多角体と病死虫産生多角体の相加効果となる。ダイズでは 1 株あたりの

表 1 ウイルスと合成殺虫剤のハスモンヨトウ防除効果比較

試験区	個体群の 齢期	死亡率 (%)		食害面積率 (%)			
		散布世代	次世代	散布当日 (5/IX)	ウイルス区被害 最大日 (15/IX)	次世代発生初 期 (27/IX)	次世代終息期 (4/X)
ウイルス MEP 対照	2~3 齢	95	99	0.5	2.7 (24.1)	2.9 (12.3)	3.6 (13.4)
		94	2	0.5	0.9 (8.0)	1.3 (5.5)	9.0 (33.2)
		2	12	0.6	112 (100.0)	23.6 (100.0)	27.1 (100.0)
ウイルス MEP 対照	3~4 齢	93	97	1.3	7.3 (29.9)	7.7 (27.1)	8.2 (26.8)
		93	2	1.2	1.9 (7.8)	2.6 (9.2)	11.2 (36.6)
		2	16	1.2	24.4 (100.0)	28.4 (100.0)	30.6 (100.0)

( ) は百分比

SlNPV 病死虫（中齢）10個体で次世代の死亡率は70%程度、25個体では90%程度以上となる。

SlNPV による防除で土壌が高濃度に汚染された場合、草丈が低いクローバなどでは効果がみられる。土壌中の多角体の作物葉への付着は、降雨の際の飛沫によるようである。

### 6. SlNPV と合成殺虫剤の防除効果比較

SlNPV ( $2 \times 10^8$  多角体/ml  $\times 0.5$  l/10 a) と MEP (10% 乳剤  $\times 0.5$  l/10 a) の効果を、若齢幼虫を主体とする個体群と中齢幼虫を主体とする個体群とで比較した。両個体群の死亡率ではウイルスと殺虫剤との間で差がなかったが、ウイルスは散布後徐々に幼虫密度と被害の進行が減少したのに対し、殺虫剤は散布直後に幼虫密度の急激な低下がみられ、短期間で防除効果が高かった。しかし、殺虫剤では効果の持続がなく数回の散布を必要とするが、ウイルスは効果の持続が優れていて、散布後に発生する幼虫に対しても高い防除効果がみられた。若齢幼虫と中齢幼虫に対するウイルスの効果は死亡率では差がなかったが、被害は中齢幼虫を防除対象とした場合に、若齢幼虫を対象とした場合の2.7倍の被害が発生し、若齢期防除の重要性が示された(表1)。

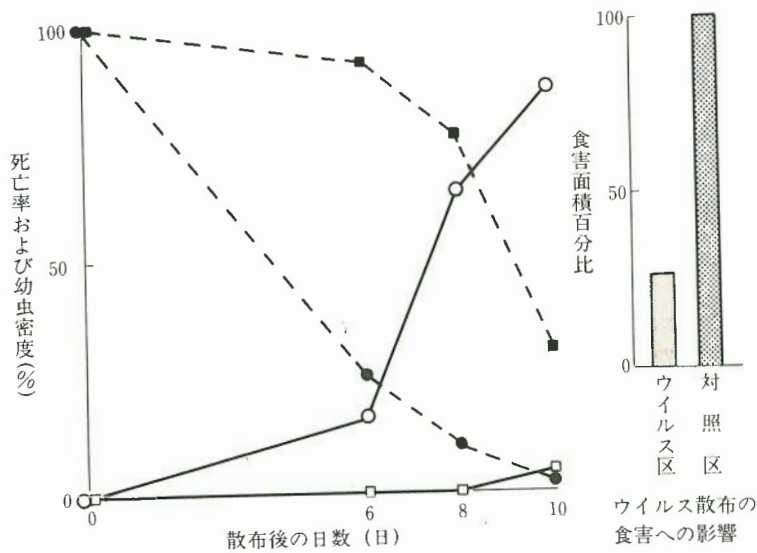


図1 サトイモ圃場のハスモンヨトウに対するウイルスの防除効果

○：ウイルス区死亡率 (%) ●：ウイルス区幼虫密度 (%)  
 □：対照区死亡率 (%) ■：対照区幼虫密度 (%)

### 7. SlNPV のハスモンヨトウ防除 実用化試験

高知県のハウス栽培ナスで SlNPV  $5 \times 10^6$  多角体/ml  $\times 40$  l/10 a を散布し、96~99%の高い死亡率が得られた。

愛媛県のサトイモ圃場で SlNPV  $4.3 \times 10^6$  多角体 ml  $\times 60$  l/10 a を散布し、死亡率は86%に達し、食害面積率は対照区の1/4で被害防止効果も認められた(図1)。ヤマイモ、アズキ、ダイズ圃場では SlNPV  $5 \times 10^6$  多角体/ml  $\times 20$  l/10 a を散布し、草丈が低く、株間が広がったヤマイモ、アズキで防除効果が高く、密植栽培のダイズでは中央部への液の到達が不十分で効果がやや劣った。作物の形状、繁茂状況等によって散布液量の増加と散布むらのない散布方法が重要である。

愛知県西三河地域の集団転作ダイズ圃場(約30 ha)で、昭和58年~59年に浅山らが SlNPV によるハスモンヨトウ防除試験を行った。ハスモンヨトウ若齢幼虫集団の食害による白変葉発生初期に  $1.5 \times 10^{11}$  多角体/10 a (ミスト散布) ~  $3 \times 10^{11}$  多角体/10 a (通常散布) を散布し、散布時発生幼虫の死亡率は90%、散布12日後発生幼虫の死亡率は84%であった。ダイズの収量は SlNPV 散布区は200kg/10 a で無処理区の170%と増収した。また SlNPV の密度抑制持続効果は約1カ月で、対照に供試したメソミル剤(45 g ai/10 a)の約10日間と比較して持続効果が高かった。

### 8. SlNPV の生産と力価検定

インゲンマメ粉末とフスマ粗挽を主材とする汎用性の人工飼料でハスモンヨトウ幼虫を大量に飼育する。コスト効率の観点から1病死幼虫あたり最大量の多角体を生産して死亡させることが重要で、多角体を人工飼料に飼料1gあたり  $5 \times 10^7$  個の割合で混合し、5齢中期幼虫に48時間添食して6齢中期の最大体重期に死亡させる。これによって1個体あたり平均  $8 \times 10^9$  多角体 ( $4 \times 10^9 \sim 2 \times 10^{10}$  個) が得られる。多角体混合飼料の添食は集合飼育とし、添食後は発病に伴う異常行動、すな



わち共食による減少や個体間の接触による死亡個体の液化消失を防止するため個体飼育とする。病死虫は真空ポンプを利用した吸引回収装置によって高能率に行う。

ハスモンヨトウは個体群によって発育速度が若干異なる。飼育温度を調節して5週間で1世代を経過させると、各曜日を特定の作業日として固定することができる。この方法で毎週10,000個体の病死虫を生産し、5週間で50,000個体の病死虫生産に要した労働時間は32時間であった。現在、合成樹脂製の育苗用ピニポット（49穴、1穴（1飼育個室）の大きさは土口3.3×3.3cm、底面2.2×2.2cm、深さ3.3cm、底に排水口なし）を使用し、調整直後の熱い人工飼料を一定量ずつ流し込む。飼料表面に多角体懸濁液を散布し、5齢幼虫を1個体ずつ収容して、添食から死亡まで同一容器で飼育する方法を検討している。より省力的な手法が完成されるであろう。

ウイルス製剤の力価の生物検定は標準品を設定して、それに対する相対力価を算出する。

本ウイルスのカイコに対する病原性、マウスに対する急性毒性および亜慢性毒性試験で、異常個体の発生は認められていない。

#### おわりに

ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスは現在、

農林水産省植物防疫課の事業等で埼玉県、岐阜県、兵庫県、香川県、愛媛県および鹿児島県において、また愛知県、島根県、福岡県および宮崎県では県独自に試験事業や普及事業が行われている。各県の農業試験場でウイルスを生産し、地域適応試験を行いながら、農家にも無償で配布されてハスモンヨトウの防除に使用されている。ウイルスの生産は防除対象害虫を大量に飼育して、これによって生産するため日本の企業では敬遠されがちである。

現在、最も安価に生産されているウイルスは Elcar (*Heliothis zea* 核多角体病ウイルスの商品名) で、消費者への販売価額は10アールあたり1~2ドルである。この低価額は安価な人工飼料への改良と飼育ならびにウイルス生産工程の自動化によって達成された。ハスモンヨトウ核多角体病ウイルスも Elcar と同程度の生産が可能と考えている。

#### 文 献

- 1) 浅山 哲, 天野 隆, 滝本雅章, 青木弘二, 浜田千裕, 岡田斉夫 (1985) 愛知農総試研報 17: 133-144
- 2) 岡田斉夫 (1977) 中国農試報 E12: 1-66
- 3) Shapiro, M. (1982) In *Microbial and Viral Pesticides*, E. Kurstak (Ed.) Marcel Dekker, Inc., New York and Basel pp.463-492

#### 国内情報

## 作物のウイルス病防除に関するバイオテクノロジー —弱毒ウイルスと形質転換植物—

農林水産省農業生物資源研究所

本吉総男

### 1. ウイルス間干渉作用と弱毒ウイルス

ウイルスがその宿主植物に侵入し、増殖すると、後に侵入する同種または近縁のウイルスの増殖またはそれによる病徴の誘発が抑えられるという現象がある。この現象は英語では cross protection または interference というが、わが国では一般に干渉とよんでいる。

干渉はウイルスどうしが近縁であるほど強く現れ、同種間では最も顕著に現れる。この干渉現象を利用したウイルス病防除法が弱毒ウイルスの利用である。すなわち病徴を誘発する能力の低いウイルス株、いわゆる弱毒ウイルスを宿主植物に接種しておけば、同種または近縁の強毒ウイルスによる感染または病徴発現を抑制することができる。このようなア

アイデアを基にして、実際にいくつかのウイルスにおいて弱毒ウイルスが探索または作出され、その中の或ものは作物のウイルス病防除に実際に利用されている。とくにわが国でよく知られたものはトマト系タバコモザイクウイルス (TMV) 弱毒株 L<sub>11</sub>A とカンキツトリステザウイルス (CTV) の弱毒株 HM55 で、それぞれ、トマトモザイク病およびハッサク萎縮病の防除に役だっている。また最近では、トウガラシ系 TMV の弱毒ウイルス Pa 18 および C1421 がすぐれた干渉効果を示し、ピーマンのモザイク病防除のための実用化試験に供せられている。またキュウリ緑斑モザイクウイルス (CGMMV) 弱毒株 SH 33b はマスクメロンの玉えそ症発病の防除に効果があることが実証され、実用化された。キュウリモザイクウイルス (CMV) によるトマトのモザイク病に対してはハウレンソウから分離された株がトマトに弱毒性を示し、この株をもとにしてよりよい弱毒株の作出が試みられている。これらの詳細については最近の総説を参照されたい<sup>1-3)</sup>。

ウイルスは、いくつかの例外を除いて、核酸 (RNA または DNA) と外被蛋白質によって構成される核蛋白であり、宿主細胞自体の蛋白質・核酸合成系を利用して自己の蛋白質の合成と複製を行なう。したがって、細胞機能を阻害せず、ウイルスのみの増殖を阻止するような薬剤の開発は容易ではない。むしろウイルスそのものをウイルス増殖の阻止に利用するとういうアイデアは理にかなったものといえる。

## 2. ウイルス間干渉のメカニズム

ウイルス間干渉のメカニズムについては、まだ不明の部分が多い。ウイルスの外被蛋白質が干渉に関与しているとする説がある。ウイルスが宿主の細胞に侵入すると脱外被が起こり、ウイルスの遺伝子の本体である核酸が露出し、蛋白合成および核酸の複製を行う。ウイルスは周辺の細胞に移行し、さらに全身に広がり、増殖して行く。この過程で宿主の細胞の中では核酸と蛋白質が再び結び付き、ウイルス粒子が形成される。その際一部の外

被蛋白質はフリーの状態に細胞内に蓄積していると考えられる。もし現在細胞内で増殖しているウイルスと同種または分子構造的に極めてよく似た近縁のウイルスが2次的に細胞に侵入したとする。2次ウイルスが増殖を開始するためには、1次ウイルスと同時に、まず脱外被を行わなければならない。しかし、もし細胞の中に1次ウイルスのフリーの外被蛋白質が充分存在するならば、脱外被が阻害され、ウイルス核酸は複製を開始することができなくなる。

この説は Beachy らのグループの形質転換に関する実験結果によって支持された<sup>4, 5)</sup>。後述するように、彼らは、形質転換によって TMV 外被蛋白質を自ら生産し、細胞内に蓄積するようになったタバコやトマトに TMV を接種したとき、その増殖は著しく抑制されることを示した。

細胞内の外被蛋白質の蓄積が干渉を引起こす一つの要因であることは確かであると思われるが、それ以外にも干渉を支配する要因があると思われる。例えば TMV の突然変異体のうち、機能を失った外被蛋白質を生産する変異体や外被蛋白質を生産する能力のない変異体でも、正常な TMV に対する干渉作用をもつという報告もある<sup>6, 7)</sup>。干渉に関する諸説については他の総説を参照されたい<sup>1-3)</sup>。

## 3. 弱毒ウイルスの作出と問題点

同種のウイルスであっても、突然変異、環境による淘汰、宿主による隔離などの原因によって、変異系統が生ずる。宿主と親和性を保ち、病徴も余り強く出さない系統もときには生じると思われる。それらのウイルスは弱毒ウイルスとして利用できるかも知れない。前述の CTV や CMV の弱毒ウイルスはこの場合に当てはまる。

突然変異を積極的に誘発させ、その後弱毒変異体を選抜して行く方法もある。突然変異を誘発する方法としては、ウイルス粒子または核酸を亜硝酸で処理する方法、ウイルス核酸を UV 照射する方法があり、また突然変異の誘発に関係があるかどうかは多少疑問ではあるが、TMV では感染組織を 35°C 位の高温

で2週間程度処理すると、弱毒変異体が得易くなるといわれており、この方法でTMV弱毒変異体が得られている。弱毒変異体を選択するには局部病斑を生ずる宿主を利用する。局部病斑を通じてウイルスを分離することによって、選択の能率を上げることができる。逆に、局部病斑宿主をもたないウイルスでは、この方法での弱毒ウイルスの作出はより困難である。

いずれにしても、選抜を基本とする弱毒ウイルスの作出は、ウイルスの種類にもよるが、一般にかなりの労力と年月を必要とする。

しかし将来は遺伝子操作技術を取り入れることにより、より容易に、より計画的に、弱毒ウイルスを作り出せるようになるかも知れない。その基本的な手法は、ウイルスゲノムの全領域をクローニングし、任意の個所を任意に変異させ、変異させたウイルスゲノム領域から感染性をもつウイルス核酸を人為的に転写させることである。すでにタバコモザイクウイルスではこのような手法が確立している<sup>8)</sup>。

このような新手法は弱毒ウイルスの計画的な作出に寄与すると思うが、どのようなものを作出し、どのように利用して行くかは、今後十分に検討すべき問題である。そのような検討のために、それぞれのウイルスの基本的性質や宿主との関連における病理および生態に関するより詳細な知識が必要である。

#### 4. ウイルス遺伝子の一部をもつ 形質転換植物

植物の形質転換に関しては、アグロバクテリウムのTiプラスミドを外来遺伝子のベクターとして利用する方法が開発され、この数年来、種々の形質転換植物が作出されてきた。ウイルスゲノムの一部を外来遺伝子として植物を形質転換させ、その植物自体に干渉能力を付与しようとする試みは、筆者らの研究室も含めて、国内外のいくつかの研究機関における研究テーマになっている。それらの中では、先に述べたBeachyらのグループが最も成功している<sup>4, 5)</sup>。彼らはTMVゲノムRNAのcDNAから外被蛋白質のコーディング領

域に相当する部分を分離し、植物細胞内で発現させることができるように、プロモーターとターミネーターを接続し、Tiプラスミドベクターによって、タバコおよびトマトの形質転換植物を得た。これらの植物はそれ自身の細胞内にTMV外被蛋白質を十分に蓄積し、そのような植物にTMVを接種すると、非形質転換植物に比し、病徴発現は遅延し、病徴は微弱であったという。彼らはアルファモザイクウイルス(AIMV)RNAのcDNAにおける外被蛋白質コーディング領域を外来遺伝子として形質転換させたタバコでも、同様に、AIMVに対する干渉作用が現れたことを観察している<sup>9)</sup>。

弱毒ウイルスの場合、そのウイルス自体のもつ諸性質をよく知った上で使用せねばならない。例えば、伝搬様式、宿主域、弱毒の安定性などについては、特に留意する必要がある<sup>10)</sup>。この点で、ウイルス遺伝子の一部のみを発現し、ウイルスそのものは生産しない形質転換植物の方が利用上有利とする考え方もある。しかし弱毒ウイルスには、状況に応じて即時利用できるという有利な点もある。形質転換植物に関しては、まだ僅かの実験的な例があるに過ぎず、実用に至るまでにはまだ多くの研究や調査、および実験的例証が必要であろう。

#### 文 献

- 1) 梶原比呂志(1986) 農業技術 41: 481
- 2) 大島信行(1986) 最新微生物ハンドブック 255, (株)サイエンスフォーラム刊
- 3) 西口正通, 本吉総男(1986) 植物防疫40: 503
- 4) Abel, P.P., R.S.Nelson, B.De, N.Hoffmann, S.G. Rogers, R.T. Fraley & R.N. Beachy (1986) *Science* 232: 738
- 5) Nelson, R.S., P.P. Abel & R.N. Beachy (1987) *Virology* 158: 126
- 6) Zaitlin, M. (1976) *Phytopathology* 66: 382
- 7) Sarker, S. & P. Smitamana (1981) *Mol. Gen. Genet.* 184: 158
- 8) 石川雅之, 岡田吉美(1987) 化学と生物 25: 409
- 9) Tumer, N.E., K.M. O'Connell, R.S. Nelson, P.R. Sanders, R.N. Beachy, R.T. Fraley & D.M. Shah (1987) *EMBO J.* 6: 1181
- 10) 本吉総男(1986) 研究ジャーナル 9(6): 22



## 国内情報

## ブドウにおける embryogenic callus の開発

農林水産省果樹試験場

松田長生

ブドウは、世界で栽培されている果樹の中では一番生産量の多い果樹であり、生食、乾果(レーズン)、ジュース、ワインとその用途も多岐にわたっている。ブドウの品種改良は、他の作物同様、もっぱら交雑育種によって行われており、それに倍数性育種を組合わせることで、大部分の品種が育成されてきている。これら従来の方法に加え、最近、急激に発達してきたバイオテクノロジーの技術を応用した新たな育種素材の作出ということも、新しい育種方法の1つとして、その手法の開発が期待されている。しかし、細胞レベルで、遺伝的変異を伴う種々の操作を効率よく行うためには、まず、再分化能のある細胞培養系の確立、つまり、培養細胞から植物体再生へのステップが安定してコントロールできる細胞培養系を作出することが、必要と考えられる。

ブドウでは、今まで、葯、未受精胚珠、茎、葉組織等の各部位からカルス誘導を行い、そのカルスから不定芽あるいは不定胚形成を経て植物体の再生に成功した例が報告されている。しかし、それらの報告は全て初代カルスからの再分化であり、今までのところ、継代を続けたカルスから安定して植物体が再生する培養系については報告がなされていない。私達の研究室では、ブドウにおける細胞培養系を確立するため、まず、葉肉組織由来カルスからの不定胚形成条件について検討を重ねてきた。そして、今まで次のようなことが明らかになった(Hirabayashi 1985)。

- ① 不定胚形成能は品種の遺伝的組成(genotype)により異なっている。
- ② 不定胚形成は、カルス誘導を行う時の植物ホルモンの濃度に依存しており、2,4-DとBAの濃度をそれぞれ5 $\mu$ Mあるいは10 $\mu$ Mで組合わせた培地でカルス誘

導を行った場合、不定胚形成が起こる。

- ③ 不定胚形成は、カルス誘導に用いるオーキシンの種類によっても影響をうけ、オーキシンとして2,4-Dではなく、NAAやIAAを添加した培地でカルス誘導を行った場合には不定胚形成が起こらない。
- ④ 不定胚形成は、誘導したカルスを植物ホルモンを全然含まないホルモンフリー培地やあるいはカルス誘導と同じ組成の培地に移植し培養を続けた場合と、カルスを移植せずにそのまま初代培養を続けた場合に起こる。

その後、いろいろな実験を進めていくうちに、ブドウでは初めてembryogenic callus(不定胚形成能を保持した細胞培養系)が得られたので、ここに紹介する。

供試材料に用いたのは、“甲州三尺”という在来の栽培品種で、今までの研究で、この品種は他の品種に比べ、高い不定胚形成能を示すことがわかっている。この品種の完全に展開した葉を、次亜塩素酸ナトリウムで滅菌した後、直径5mmのコルクボーラーで葉片をうち抜き、寒天培地に置床し、カルス誘導を行った。培地は、基本培地として、Nitsch and Nitsch (1969)を用い、それに、2,4-DとBAをそれぞれ5 $\mu$ Mあるいは10 $\mu$ Mの濃度で組合せたものを用いた(pH5.8, 寒天0.8%)。培養は28°C, 暗黒下で行った。約40日後に、誘導されたカルスを葉片ごと、有機物を除いた基本培地に1 $\mu$ Mの2,4-Dを添加した寒天培地に移植し、照明下(約3,000lux)に移し培養を続けた。一部のカルスは、新しい培地に移植せずにそのまま暗黒下で培養を続けた。その結果、初代および移植カルスのどちらからも、培養後5カ月から6カ月目の、カルスが褐変した状態で始めて不定胚が形成

された。不定胚形成の頻度はそれほど高くなく、培養した葉片カルスの10%を超えることはほとんどなかった。形成された不定胚は、時間を経るに従って、そこから二次胚あるいは三次胚が発達してきて、やがて、いろいろな発達段階の不定胚を含む不定胚の塊になった。誘導された不定胚は、植物ホルモンを含まない培地に移植し、照明下で培養を続けると、子葉と根が発達してきて幼植物に生長していったが、異常な発達をする不定胚も多くみられた。embryogenic callusは、このようにして誘導された不定胚の塊を、再度カルス化することによって得られた。有機物を除いた基本培地に $1\mu\text{M}$ の2,4-Dを添加した培地に、不定胚の塊を再度移植し照明下で培養を続けると、不定胚は幼植物に発達せず、やがて褐変した。しかし、そのまま培養を続けると、2カ月程して黄白色の小さな粒状のカルスが褐変した不定胚の塊から現われてきた。このカルスは、植物ホルモンを含まない培地に移植すると多数の不定胚を形成したことから、embryogenicなカルスと認められた。このembryogenicなカルスは、移植をしなかった初代カルスから得られた不定胚と2,4-Dのみを含む培地に移植したカルスから得られた不定胚のどちらからも、誘導することができた。

このカルスは、細胞質に富む小さな細胞からなっており、通常のカルスに比べると増殖率は低く、1カ月で二倍程度にしかならないが、同じ培地、つまり $1\mu\text{M}$ の2,4-Dを含む培地（有機物を除く）で継代が可能であった（写真1）。このカルスは、4～6週間間隔で少なくとも2年間は継代を繰り返しているが、

まだ不定胚形成能は失われず、植物ホルモンを含まない培地に移植すると多数の不定胚を形成した（口絵写真参照）。2年以上継代したカルスから再分化した植物体の根端の染色体数を調べてみると、 $2n=38$ であり、染色体数の変異はみられなかった。

今回得られたembryogenicなカルスの特徴を要約すると、以下のことがあげられる。

- ① 長期間継代しても不定胚形成能を失わず保持されている。
- ② 長期間継代したカルスから再分化した植物体の染色体数に変異がみられない。
- ③ カルスから不定胚への変換が、単に培地組成を変えるだけで容易にコントロールできる。
- ④ カルスから不定胚に発達する期間が、1カ月以内と短い上に、多数の不定胚が形成される。

以上のように、このカルスは極めて安定した細胞培養系であり、ブドウにおける組織培養の基礎技術の開発を行うための実験材料として、十分期待できる。ブドウでは、プロトプラストからカルスは得られているが、その後の植物体の再生に成功したという報告はまだなく、プロトプラスト系を利用したいろいろな技術が応用できない状態である。今後、このカルス系を用いてプロトプラスト培養系の確立ひいては細胞融合、遺伝子導入の開発を試みたいと考えている。

## 文 献

Hirabayashi T. (1985) Somatic embryogenesis from leaf tissues of grape. In *Colloque Amelioration de la vigne et culture in vitro*. Moët-Hennessy, Paris, pp 75-82.



## 文献情報

## 遺伝子組換えによる耐虫 性植物の作出

グラム陽性菌である *Bacillus thuringiensis* はある種の昆虫に対する毒素を作る。これはタンパク質の結晶であり、昆虫の中腸でのみ溶解して分解され毒性を発揮するものであり、他の生物に対しては毒性がない。したがってこれは安全な殺虫剤であり、現在用いられている化学薬品にかわるものとして注目されてきた。しかし、生産コストやこの物質の圃場における安定性などの問題があり、使用は限定されている。この殺虫性タンパク質を合成する遺伝子を、遺伝子組み換えの技術を用いてタバコに導入し、それ自体に殺虫性のある耐虫性植物を作出することが試みられた。

*B. thuringiensis* からの bt 2 遺伝子の大腸菌によるクローニングと、その発現はすでに報告されている。これによって作られるタンパク質は Bt 2 とよばれ、1,155 のアミノ酸から成り、その幼虫が葉を食べるためタバコの害虫である鱗翅目昆虫 *Manduca sexta* に対して毒性をもつ。Bt 2 の殺虫性は、このタンパク質の N 末端側 29~607 番目のアミノ酸のポリペプチドにある。本報では、形質転換の実験のために、完全な bt 2 遺伝子および N 末端から 610 番目 (bt 884)、683 番目 (bt 860)、724 番目 (bt 23) までで切ったキメラ遺伝子を用い、選抜のマーカーとしてカナマイシン耐性を示す遺伝子 (neo) を組みこんだ。上記の后者 2 つは bt 遺伝子の 3' 末端に neo 遺伝子を結合させてある (bt: neo 860, bt: neo 23) ため、2 つが融合したタンパク質 (Bt: NPT 860, Bt: NPT 23) が合成されたが、これらは安定であり、殺虫性およびカナマイシン耐性の両方を示した。大腸菌でクローニングしたこれら 4 種の遺伝子を、ベクターとして用いたアグロバクテリウムの Ti プラスミドの T-DNA 領域に挿入し、leaf disk 法でタバコの葉に感染させた。再分化した shoot の中から

カナマイシン耐性を示す植物体を選抜して生育させた。それぞれの植物体の葉片を *M. sexta* の幼虫に食べさせ、6 日目に致死率を調査することによって、殺虫性を検定したところ、長い融合タンパク質 Bt: NPT 23 を合成するものでは選抜したものの 1/4 が、短い融合タンパク質 Bt: NPT 860 を合成するものではその 2/3 が高い殺虫性 (致死率 75~100%) を示した。また、bt 884 を用いた場合にはその 2/3 が高い殺虫性を示したが、完全な bt 2 遺伝子を導入したものでは十分な殺虫力をもつ植物体は得られなかった。融合タンパク質を合成する前者 2 つの場合は、それぞれの植物体のカナマイシン耐性の程度と殺虫力とが強い相関を示し、これらを用いることにより、カナマイシン耐性をマーカーにして高い殺虫力をもつ植物体を効率良く選抜できることが示された。この殺虫力は圃場試験でも充分示され、温室で生育している植物体の葉に *M. sexta* の幼虫をおいたところ、殺虫性の高いものでは幼虫は 18 時間以内に葉を食べるのをやめ、3 日以内に死滅し、食害は 1 匹当たり 2~3 mm<sup>2</sup> であった。植物体の示す殺虫力は、葉に含まれる殺虫性タンパク質の量と密接な相関があった。殺虫性タンパク質が全タンパク質の 0.004% 以上あれば十分な殺虫力が得られるが、ここで選抜されたもので多いものはその 3~5 倍の量が含まれていた。また殺虫性タンパク質の量は RNA 量と相関があった。充分殺虫力のある植物体は得られなかった完全な bt 2 遺伝子を導入したものでは、葉に含まれる殺虫性タンパク質および RNA の量が他に比べて非常に少なかった。他の場合と同じプロモーターを用いたにもかかわらずなぜ完全な bt 2 遺伝子が植物体の中でうまく発現しないのかは明らかではないが、種々の RNA の安定性、翻訳の効率などが問題ではないかと推測されている。このようにして植物体に組みこまれた殺虫性は、安定して後代に遺伝し、高い殺虫性を示すものの F<sub>1</sub> は同じように高い殺虫性を示した。また、カナマイシン耐性とも相関を示したまま遺伝した。DNA 分析の結果、高い殺虫性を示すものでは、少なくとも 5 個のこの遺伝子のコ



ピーが T-DNA 領域に存在することが明らかになった。

以上述べたように、*B. thuringiensis* の殺虫性タンパク質の遺伝子を植物体に組みこむことによって、それ自体が殺虫性をもつ耐虫性植物を作出する可能性が示された。これは、昆虫の食害から作物を護る新しくかつ環境的に安全な方法として期待される。

(抄訳 有賀小海)

#### Transgenic plants protected from insect attack

Mark Vaeck, Arlette Reynaerts Herman, Höfte, Stefan Jansens, Marc De Beuckeleer, Caroline Dean, Marc Zabeau, Marc Van Montagu & Jan Leemans

*Nature* 328 : 33-37 (1987)

#### 文献情報

#### マイクロインジェクション法を用いた染色体導入による形質転換

多くの作物における重要形質は、500kbp程度の DNA より成るポリジーンにより支配されていると推定されているが、遺伝子導入の手段として注目されている Ti プラスミドを用いた方法では、14kbp程度の DNA しか導入できない。そこで、染色体をマイクロインジェクション法によってプロトプラストに導入し、ポリジーン支配の形質転換を図った。

材料として、*Petunia alpicola* の染色体と *P. hybrida* のプロトプラストを用いた。形質転換のマーカースとしてフラボノイド合成系路の酵素系を使用した。

染色体を導入する際には、プロトプラストから液胞を取り除いたものを使用した方が、生存率が高く、有効であった。染色体の長さは約  $1\mu\text{m}$  である。マイクロインジェクションには直径  $2.5\mu\text{m}$  の針を用い、 $0.1\text{pl}$  の染色体液を注入した。この時、プロトプラストに与えるダメージを少なくするために、注入圧をできるだけ弱くし、ゆっくりと注入するように留意した。

また、染色体液を低濃度で保存し、使用時に濃縮して素早く注入した。DAPI によって検定すると、マイクロインジェクションにより染色体を一本だけ導入することができたのは、全体の60%で、2本以上の染色体が導入されたのは20%、残りの20%には、染色体は導入されていない。

インジェクション後、プロトプラストは1週間以内に分裂を開始した。60%の細胞に染色体異常や、染色体断片が認められ、染色体が入っていることが推定できた。3週間で約  $1\text{mm}^2$  のマイクロカルスになった。対照区として、450のプロトプラストにバッファーを注入したものでは22%がカルスとなり、これには SDS ゲル電気泳動のタンパク質バンドの違いは見られなかった。しかし、染色体を注入した250のプロトプラストの24%(60個)がカルスとなり、そのうちの4%(2個)にバンドの差が見られた。この2個のカルスから再分化した植物の花のフラボノイド及び有機酸の分析結果も、これらのカルスから再分化した植物が、形質転換されていることを支持していた。2種類の形質転換体のうち、1個体は不稔で他の1個体はわずかに稔性があった。後者を *P. hybrida* と交配したところ1個体の植物が得られ、その形質は *P. hybrida* に似ていた。

導入された染色体は、動物細胞に見られるように非常に不安定であった。そのため、形質転換率も4%と非常に低いものと思われる。

しかし、植物細胞において、染色体をマイクロインジェクションによって導入できるという事実が明らかにできた。

この手法は、DNAによる形質転換と全ゲノムを使う交雑の橋渡しをするものと考えることができよう。(抄訳 日向康吉)

#### Chromosome-mediated transformation via microinjection

Griesbach P.J. *Plant Science* 50 : 69-77 (1987)

## 文献情報

## ダイズ初生葉カルスからの再分化

従来ダイズカルスからの植物体再分化は困難視されていたが、近年になって成功例が報じられるようになった(Christiansonら, 1983; Yangら, 1984; Lippmanら, 1984; Ranchら, 1985; Wrightら, 1986a, b; Barweleら, 1986)。本報文では、葉片を用いた効率の良い培養系が検討されている。

ダイズ品種 Essex を用いて実験を行った。発芽5日後の2~5mmの初生葉を中心から縦に裂いて2つに分け、B5培地に40mg/lの硫酸アデニン、1.0g/lのグルタミン、0.1mg/lの2,4,5-T(2,4,5トリクロロフェノキシ酢酸)を加えたCS23培地に葉片を置床し、27°C、16時間日長下で培養した。4週間後に再分化率を調査し、BA5 $\mu$ Mを加えたB5培地(BAB5)に移植し、その4週間後に再び再分化率を調査した。CS23培地で葉片は生長し、葉柄の基部にカルスを生じた。4週間の間にこのカルスに葉状の構造が出現した。BAB5培地に移植すると、さらに莖葉原基およびカルスは生長を続け植物体を得られた。培養開始4週間後に、BAB5培地に移植せずにCS23培地に再び移植すると、カルスの表面に棒状の胚様体と思われる構造物が形成されるが植物体とはならない。再生植物体はCS23培地からBAB5培地に移植した時のみ得られる。

外植片を葉、胚軸、根で比較してみたところ、葉片は50%が再分化したのに対し、胚軸や根はカルスのみを形成した。また、葉片は発芽後5日目の初生葉で、大きさが2.1~4mmのものが最適であった。

培養容器について検討してみたところ、試験管では8週間後に27%の再分化率を示すのに対し、ペトリ皿では全く再分化しなかった。

2,4,5-Tを0.01~1mg/lの範囲で試験したところ、再分化には0.1mg/lが最適であった。また、2,4,5-TとBAの相互作用をみ

てみると、2,4,5-T単独で培養した後にBAを加えた培地に移植したものが最も良い再分化率を示した。両ホルモンを同時に加えたものでは再分化を抑制し、カルス化を促進した。

開花結実型の異なる27の品種・系統にこの手法を適用してみると、8週間後の再分化率は最低で9%、最高のものでは71%であった。

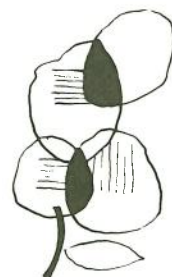
グルタミンは、酸性条件で熱処理をすると分解されてピログルタミン酸になると言われる。培地中にグルタミンを添加してからオートクレーブをかけた場合の再分化率は40%でグルタミンを濾過滅菌をして培地に添加した場合の再分化率は2%であった。グルタミンは再分化を抑制するが、熱で分解されることによりピログルタミン酸になり、再分化を促進すると考えた。オートクレーブをかける前にグルタミンを添加した時の最適濃度は10mMであったが、ピログルタミン酸を直接与えた時には20mMが最適であった。

基本培地として、MS, SH, B5についての比較を行った。MS培地では再分化しなかった。SH, B5の間では、カルスの生長に差はないが、B5における再分化率はSHに比べて約3倍高かった。

これらの結果はホルモン、葉片のサイズとステージおよび培養容器の組合せが、ダイズ葉片の培養において重要で、これらが満足されれば再現性の高い結果が得られることを示している。(抄訳 力石和英)

Regeneration of soybean (*Glycine max* L.Merr.) from cultured primary leaf tissue

Wright, M.S., D.V. Ward, M.A. Hinchee, M.G. Carnes and R.J. Kaufman  
*Plant Cell Reports* 6: 83-89 (1987)



## 文献情報

糸状菌 *Aspergillus nidulans*  
による異種タンパク質の生産

真核生物由来のタンパク質を大腸菌のような原核微生物を宿主として生産させた場合、かなりの量の生産が可能であるが、大部分は不溶性タンパク質として菌体内に蓄積される。そこで、宿主として下等真核生物である酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いて、真核生物由来のタンパク質を分泌生産させようとする試みが多くなされており、いくつか成果も上がりつつある。一方、酵母と同じく真核微生物である麹菌 *Aspergillus oryzae* は、古くから醸造工業に利用され、その酵素生産能の高いことはよく知られているところであって、異種タンパク質の分泌生産に関しては酵母よりも優れている可能性があるが、麹菌の形質転換系の開発は酵母に比べかなり遅れていて、ようやく最近になって確立した<sup>1, 2)</sup>のが現状である。このような状況の中で、アメリカのグループにより麹菌と同属である *Aspergillus nidulans* を宿主として、チーズ製造工程に必須とされる牛のキモシン（凝乳酵素）の分泌生産に成功したという報告<sup>3)</sup>は、麹菌による異種（特に真核生物由来）タンパク質の大量生産への期待を抱かせるものと言えよう。

キモシンは、子牛の第4胃から分泌される酸性プロテアーゼの一種で、乳中のκカゼインの特定部位だけを選択的に切断することにより凝乳現象を起こさせる酵素である。この前駆体であるプロキモシンのcDNAが西森ら<sup>4)</sup>、Harrisら<sup>5)</sup>、Moirら<sup>6)</sup>によって独立にクローニングされた。大腸菌を宿主としてプロキモシンを高発現させると大部分が菌体内で不溶性となり、活性を示すタンパク質として回収するには複雑な操作が必要であった。また酵母を用いてプロキモシンを分泌生産する試みも検討され、酵母のインベルターゼのシグナルペプチドを連結し、染色体に組込んだ形で、宿主を高分泌能を示す変異株（super

secretor (SSC)) とすることにより、20mg/lのタンパク質を生産することが可能とはなかった<sup>7)</sup>が、生産量としてはまだ少ないため、更に改良が必要とされている。

糸状菌 *A. nidulans* を宿主としてプロキモシンの分泌生産を行なうために用いたプラスミドは、選択マーカーの *Pyr 4*（ウラシル要求性を相補する）と *A. nidulans* で高頻度の形質転換能を示す配列である *ans 1* をもち、これに *A. niger* のグルコアミラーゼ遺伝子のプロモーター領域とシグナルペプチドを含む5'末端近傍の長さのいくつか異なる配列の後ろに、プロキモシンのcDNAを連結したものである。これらのプラスミドによって *A. nidulans* を形質転換したところ、いずれの形質転換体も菌体外にプロキモシンを生産したが、同一のプラスミドを用いた形質転換体の間で生産性にはかなりの差があった。プラスミドの種類としては、グルコアミラーゼのシグナルペプチドの直後にプロキモシンのcDNAを連結したものが最も生産能が高く、形質転換体6株平均で乾燥菌体1gあたり146μgのタンパク質を分泌生産した。また、シグナルペプチドとしてプロキモシン自身のもを使用した場合でも93μgのタンパク質の生産が認められたことから、*A. nidulans* は哺乳動物である牛のシグナルペプチドを認識し切断するものと考えられた。

形質転換体は体細胞分裂を繰返してもかなり安定であり、用いたプラスミドは染色体に組込まれているものと考えられる。サザーン・ハイブリダイゼーションの結果から、形質転換体のいくつかの株では、プロキモシン遺伝子が何コピーか染色体内に存在していることが明らかとなったが、このコピー数とプロキモシンの分泌生産との間には、強い相関はなく、コピー数の上昇により生産能の向上が図れるかは今後の課題であろう。

プロキモシンのcDNAは、グルコアミラーゼのプロモーター領域の下流に連結してあることから、*A. nidulans* の形質転換体によるプロキモシンの生産はグルコアミラーゼ生産の誘導基質であるデンプンを炭素源とした場合に認められ、グルコアミラーゼの誘導基



質とはならないキシロースを炭素源とする培地では殆ど生産されない。この炭素源の違いによるプロキモシンの生産の有無は、転写レベルで制御されており、デンプン培地で生育した菌体には1.2kbのプロキモシンのmRNAが存在するのに対して、キシロース培地で生育した菌体には相当するmRNAは僅かしか認められなかった。また、デンプン培地で生産されるプロキモシンの90%以上が菌体外に分泌され、その大部分が活性を有していた。

*A. nidulans* を宿主としてプロキモシンを生産した場合の収量は、現在のところ、乾燥菌体1gあたり150 $\mu$ g程度、また、培地1lあたりでは2.5mg程度(培地中の全タンパク質濃度120~160 $\mu$ g/mlの0.4~1.5%がキモシンである)と酵母に比べてもかなり低い。これは、宿主として用いた *A. nidulans* が本来菌体外に多くの酵素タンパク質を分泌する微生物ではないことも一因であり、今後は酵素生産に工業的に利用されている *A. niger* や麹菌 *A. oryzae* を宿主として用いることにより生産性が飛躍的に増大する可能性がある。因みに、*A. niger* はグルコアミラーゼを最適条件下で5g/l以上も生産することが知られている。また、*A. nidulans* の形質転換体の染色体に組込まれたプロキモシン遺伝子のコピー数はあまり多くなく、コピー数と酵素タンパク量との間に明確な比例関係は認められていない。しかし、麹菌の形質転換系では、用いたプラスミドのコピー数が30~60個と多くなると同時に、選択マーカーとして用いた *arg B* 遺伝子にコードされる酵素(オルニチン・カルバミルトランスフェラーゼ)の活性もコピー数に比例して著しく上昇することが認められている<sup>2)</sup> ので、今後、このような宿主-ベクター系を利用することにより異種タンパク質の大量生産の試みがなされることが期待される。(抄訳 五味勝也)

Controlled expression and secretion of bovine chymosin in *Aspergillus nidulans*  
Cullen D., Gregory L. Gray, Lori J. Wilson,

Kirk J. Hayenga, Michael H. Lamsa, Michael W. Rey, Shirley Norton, and Randy M. Berka *Bio/Technology* 5: 369 (1987)

#### 文献情報

### パパイヤのクローン増殖のための側芽培養

重要な熱帯性果実作物であるパパイヤは、異型接合性、雌雄異株の作物であり、また、多くのウイルスに感染しやすいので、その育種・栽培上の改良が困難である。さし木、接ぎ木などの通常の増殖技術で成功した例は少ない。組織培養による増殖も試みられてきたが、多くの場合カルスが誘導されたり、また、茎頂培養を行なうにあたっては、パパイヤのような分枝しない作物では、多くの親作物を犠牲にしなければならない。そこで、本研究では、パパイヤの側芽を組織培養して増殖する方法を探索した。

(材料と方法) 圃場で育成した *Carica papaya* var Rusa Dwarf の雌株の最上部の若い未展開葉からなる5mm長さの側芽を材料とした。MSの基本培地を用い、側芽の活着、shootの分化増殖、及び発根に及ぼすIAA, IBA, NAA, NOA, 2,4-D, KIN, BAP, 2iPそしてZEAなどの生長ホルモンの影響を調べた。培養は、26°C、16時間日長(3,500ルクス)の条件で行なった。

(結果) 最初の培養で、NAA, KINの濃度がそれぞれ10 $\mu$ M, 50 $\mu$ Mの場合に、側芽の生在率をもっとも高かった(60%)。培養開始後2週間で新しい生長がみられるようになるが、30~40日間培養して植物体が直径2cm位になると側芽は安定したと思われる。側芽培養をすると、節間が短かく、葉面積は小さくなるようである。この最初の培養でゆっくり生長させた後、新しい培地に植物体を移した。その後約1カ月でひとつの側芽から発生したshootの数は、BAP 2.5 $\mu$ M, NAA 0.5 $\mu$ Mの場合にもっとも多かった(5 shoots)。

この培地は基本的な増殖培地として以後の実験に用いられた。ひとつひとつの shoot を新しい増殖培地で20日培養した結果、shootの増殖率は平均10倍となった。この shoot 培養は1年半にわたって増殖率が低下することなく、また、生育状況に変わりなく続けられた。

次に、shootの増殖と生長に及ぼす生長ホルモンの影響をみると、KIN, ZEA, 2iP にくらべて BAP の場合に増殖率はもっとも高かった。しかし、BAP の濃度を高くすると、shoot は短かく、葉は小さくなった。他の三つのホルモンの培地では、増殖率は BAP の場合より低下するが、shoot 及び葉の長さは比較的大きくなった。とくに、4 $\mu$ M の ZEA, あるいは、8 $\mu$ M の 2iP の培地では、比較的に長い shoot と大きい葉が得られた。このように、サイトカイニンを与えた場合、shoot の分芽増殖と生長との間に一種の拮抗作用がみられる。この拮抗作用を緩和するために、茎伸長に効果のあるジベレリンを加えても良いのではないかと思われる。

IAA, NAA, NOA, 2, 4-D を含む培地では、発根はみられず、IBA を加えた時にのみ、4 回目の培養で shoot から根が発生した。IBA 濃度の増大とともに発根率は高くなり、20 $\mu$ M の濃度で60%となった。第1次根の数は9から12であり、根系は第2次根、3次根とも正常に発育した。一方、shoot は矮性化し、不正常であった。この現象は、側芽が頂芽優勢の強い制御のもとに発生したことを示している。培地中のサイトカイニンは、側芽に内在するこの強い生長抑制作用を完全にとりのぞけなかったのであろう。

(抄訳 山本友英)

#### Lateral bud culture of papaya (*Carica papaya* L.) for clonal propagation

Rajeevan, M. S. and R. M. Pandey

*Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 6: 181-188 (1986)

#### 文献情報

### モモの *in vitro* 増殖と 発根に及ぼす諸要因

モモの木の *in vitro* 増殖は、台木に芽をつぐ従来の技術にくらべて、自己発根のつぎ穂を大量に生産することを可能にする。既に、フランス、イタリアでは、モモの *in vitro* 増殖の報告がだされ、この技術は一層魅力的になっている。しかし、現在、組織培養で自己発根させた苗木を商業的に生産するという例は極めて少ない。更に、これまでの報告では、発根が充分検討されてない、ある限られた品種を調べている、また、若い植物体を材料にしているなどの問題点が含まれている。したがって、本報告では、8品種のつぎ穂とひとつの台木の *in vitro* 増殖、発根、順化に及ぼす種々の要因、更に、その遺伝的安定性について述べている。

(材料と方法) 温室で育成した早生 2, 中生 4, 晩生 2 の 8 品種を選んだ。基本培地は 1/2 強度の MS 培地に 555.1 $\mu$ M ミオイノシトール, 4.06 $\mu$ M ニコチン酸, 2.43 $\mu$ M ピリドキシン, 1.18 $\mu$ M チアミン, 58.4mM シュクロース, 0.6% phytagar を加えたものである。最初の培地は、phytagar なしの基本培地に 0.88 $\mu$ M の BA と 0.05 $\mu$ M の IBA を加えたもので、この培地で shoot を増殖させ、その後、phytagar を加え、BA 濃度を高くした。発根前に shoot を基本培地に移し、4 $^{\circ}$ C dark 35~40 日間 incubate し、その後、発根培地で 26 $^{\circ}$ C dark 条件で 2 週間、更に、基本培地で 26 $^{\circ}$ C 16 時間日長で 2 週間 incubate し、発根率を比較した。発根促進剤として、クロロゲン酸、フロログルシノール、ケルシチン、ルチンの影響も調べた。発根した shoot を温室の mist bench に移し、1 週間で照明を太陽光の強さまで徐々に強くして、順化を調べた。また、1 個体あたり少くとも根端の 50 細胞の染色体数を調べ、遺伝的安定性を確認した。

(結果) 分芽増殖の品種間差は、実験したすべての BA 濃度で認められた。BA 17.6 $\mu$ M

で分芽増殖率は最高となったが、この濃度では shoot の先端にネクロシスが生じた。8.8  $\mu\text{M}$  の BA ではネクロシスは生じず、この濃度が最適であると思われる。この場合、実験植物体あたりの shoot 数は早生品種において多く認められた。

発根率についても、すべての培地で品種間差が認められた。28.5  $\mu\text{M}$  の IAA, IBA, NAA の効果を比較すると、多くの品種で、IBA あるいは NAA の培地で発根率は高かった。ただし、若い材料である“Nemaguard”については、上記3種のホルモンのいずれかを含む培地で発根率は高かった。発根に及ぼす NAA 濃度の影響をみると、“Compact Redhavon”, “Redhavon”などの早生品種では、NAA の低い濃度 (2.9  $\mu\text{M}$ ) の場合に発根率が良く、中生の品質では、5.8  $\mu\text{M}$  の濃度で発根率が高くなった。このような発根率を左右する培地ホルモン濃度の品種間差は、次のように説明される。すなわち、開花期を制御する遺伝子による内生ホルモンのレベルに差が生じ、その結果、発根にもっとも有効な培地中ホルモンの濃度が異なってきたものと思われる。

IAA 28.5  $\mu\text{M}$  の培地で発根率の品種間差をみると、“Sunhigh”, “Suncrest”, “Jerseyqueen”などの中生品種では、dark 条件で発根率は高く、一方、“Compact Redhavon”, “Redhavon”などの早生品種の発根率は、dark, light のいずれの条件でも低かった (2~6%)。これらの品種を light 条件にして、4種の発根促進剤の影響を比較すると、ケルチンの場合を除いて、36~100%の発根率が認められた。個体あたりの根の数は、IAA にフロログルシノールを加えた培地でもっとも多かった。クロロゲン酸とルチンを培地に加えると、かなりのカルスが形成された。これは、それらの濃度の高いことによるものと思われ、それらを低濃度にして発根率を高める点については、今後、検討すべき問題である。

発根前の shoot 培養の期間の長短は、発根培地に移してからの発根率に大きな影響を及ぼした。すなわち、発根前に19~21カ月培

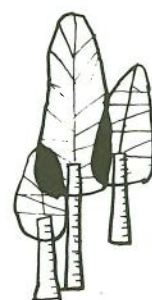
養すると、7~9カ月の場合に比べて、約2倍の発根率が認められた。したがって、今後、発根率を調べる反覆実験をする場合には、shoot培養の期間を同じにする必要がある。

本実験で *in vitro* 増殖した植物の95%は順化良好であった。また、染色体数はすべて、 $2n=2x=16$ であった。これらの結果から、モモの木の大量増殖にとって有効な培養系が得られたと判断される。現在、この系は迅速に選抜をすすめる育種家たちによって利用されている。しかし、組織培養による苗木の商業化以前に、長期の圃場試験とコスト低減のための培養の能率向上が更に求められている  
(抄訳 山本友英)

#### Factors influencing *in vitro* multiplication and rooting of peach cultivars

Hammerschlag, F. A., G. R. Bauchan, and R. Scorza

*Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 8: 235-242 (1987)





## 文献情報

## 体細胞胚形成を経由した野生稻の完熟種子及び幼花序からの植物体再生

野生稻 (*O. perennis*) は冠水や酸性土壌といった不良環境に対して抵抗力が強く、交雑に有利な花の構造を持つが、それらの有用な遺伝形質の栽培種への導入は交雑不和合性が高い為困難である。この障害を克服する手段として、交雑した胚を初期の時点で取り出して培養したり、プロトプラスト融合によって交雑によらない雑種を得るという方法が考えられるが、その前にカルス形成や植物体再生の能力を調べておく必要がある。

また、植物体再生の経路としては、体細胞胚形成を経由したものが、母本の遺伝形質を長期間安定して維持するので、*in vitro* における植物増殖に望ましいと考えられる。体細胞胚形成はイネの栽培品種では可能になっているが、これまで野生種での報告はなかった。本実験では、幼花序由来と完熟種子の胚盤由来のカルスより、体細胞胚形成を経由して、再分化植物体が得られた。

カルス誘導培地はMS基本培地に2.4-D 2 mg/l, BAP 0.2mg/l, ショ糖 3%, 寒天 0.8%を添加し、pH 5.8に調整後オートクレーブで滅菌した。再分化培地は macro と micro の無機栄養とビタミンを含む MS 培地に IAA 0.5mg/l, NAA 0.5mg/l, BAP 4 mg/l, カゼイン加水分解物 (casein hydrolysate) 500mg/l, 3%ショ糖と0.8%寒天を加え pH 5.8に調整後、滅菌した。

野生稻 (*O. perennis*) の幼穂を採取し、70%エタノールで2~3分、続いて mercuric chloride で10~15分表面殺菌した。滅菌した幼穂より幼花序を摘出し、カルス誘導培地 (100×15mm dish) に1~2本ずつ植えつけた。培養は26~27°C, 暗黒条件で行った。継代は4週間ごとに行い、継代ごとに胚を形成するカルスを、解剖顕微鏡を用いて選り分けた。完熟種子はもみがらを取り、滅菌してからカ

ルス誘導培地に、培地あたり8~10粒ずつ植えつけた。滅菌の方法と培養の条件は上述の通りである。

幼花序由来のカルスは、置床から4週間頃に薄黄色の半透明のものが見られ、3回目の継代から2週間のちに、胚形成カルスと胚形成しないカルスが初めて見分けられた。この2種類のカルスの形態は著しく異り、胚を形成するカルスは、白色で、固く、球状であり、胚を形成しないカルスは柔軟で、砕けやすく、半透明で黄色を示した。完熟種子由来では、初代培養の4週間頃に、胚盤からの胚形成カルスが認められた。

選り分けた胚形成カルスは、再分化培地に植えかえ、連続光 3,000 lux で培養し、4週間ごとに継代した。再分化培地に置床した後、2つの分裂中心を持ち、子葉鞘と根鞘を伴った胚様体がカルスから生じ、これらから植物体を再生することができた。

再分化植物体の草丈が3~4cmになった時、植物生長調節物質を含まないMS培地に移して、さらに生育させ、草丈が10~15cmの時に液体の発根培地 (Yoshida *et al.* 1976) に移植して発根を促進した。その後、ポット土壤に植えかえ、昼間29°C夜間21°C, 自然光条件下で生育させた。

カルスの再分化能は10継代、12カ月まで維持ができるが、継代培養を重ねるにつれて、再生個体の収量も緑化個体の収量とともに低下する傾向が明らかである。幼花序由来カルスでは、6回目の継代では再分化率は80%、緑化個体はカルスあたり5.85本であるのが、10回の継代を経たものでは、それぞれ60%と3.5本に落ちてしまう。完熟種子由来カルスも同様の傾向を示し、6回目で再分化率75%、緑化個体はカルスあたり6.5本あるのが10回目では70%と4.4本に落ちる。

なお、これらのカルスの2つの起源の違い、つまり、幼花序由来のものと同熟種子由来のもの間には、再分化率、カルスあたり緑化個体数ともに有意な差はなかった。

しかしながら、実験の手間の点からすると完熟種子の方が、保存しやすく、またいつでも実験ができるので、適当な材料だと考えら

れる。(抄訳 高原美規)

Plant regeneration through somatic embryogenesis from mature seed and young inflorescence of wild rice (*Oryza perennis*

Moench.)

Man-Si Wang, F.J. Zapata, and D.C. De Castro

*Plant Cell Reports* 6: 294-296 (1987)

外国特派員便り

## BIOEXPO 87 とフランス農業

農林水産省農業研究センター  
稲垣正典

1987年春のヨーロッパでは、バイオテク（バイオテクノロジー）に関する会議・シンポジウムが目白押しに開催されている。筆者（フランス政府給費留学生としてパリに滞在中）は、そのひとつであるバイオエキスポ87を耳聞することができたので、その概要を報告したい。このエキスポは1983年以来隔年に企画され、今回はパストゥール研究所およびBIO-FUTUR（バイオテクに関する民間情報協会）が組織委員となり、14カ国からの参加で3月24日より5日間にわたりパリで開催された。その内容は、フランス内外のバイオテク関連の機器展示・研究紹介のほか、技術的から政治経済的な面にわたる講演会ならびに設定課題の公開討論会から構成される。

展示会場には、組織培養に関連する実験器具、医薬品、測定機器、研究成果の紹介、情報誌などについて300以上のコーナーが設けられた。豊富な資料が用意された各コーナーでは、自社の研究開発成果がパネル・実物で紹介され、訪問者の質問・疑問に答えていた。筆者の察するところでは、研究教育関係者を主に相手としている様子で、資料カタログが不十分などときには後日送付するといった具合に商品の売り込みに熱心であった。

講演会は、2会場で3日間にわたり、1)形質転換細胞から栽培植物まで、2)バイオテクにおけるヨーロッパの戦略、3)厚生医療におけるバイオテクの効果、4)モノクローナル抗体と核プローブ、5)バイオエレクトロニクス、および6)地域産業におけるバイオテクの役割、の分科会で行なわれた。筆者の参加した第1の分科会では、バイオテクの発展を科学的、応用的および経済産業上の側面からとらえた9課題が発表された。その講演要旨を紹介すると、まず概説として、パリ大学のA. Berka-

loff は、細胞質および核ゲノムをもった植物細胞の特徴を述べ、植物育種におけるバイオテクの役割は遺伝的不親和性の解消、均一な植物の再生産および雑種から品種育成までの年限短縮にあるとまとめた。次に西ドイツのG. Wenzel は、植物組織培養による一般的な成果を示した後、オオムギおよびポテトにおける半数性細胞の選抜の例から、バイオテクを利用した品種改良は変異作出と選抜の2面において従来の方法と異なる領域を開拓し有利であると結論し、今後10~15カ年の極めて楽観的な見解を示した。ベルギーのI. Negrutiu は形質転換技術の効率と限界を述べ、西ドイツのL. Willmitzer はポテトにおいてアグロバクテリウムを用いた形質転換遺伝子の器官特異的な発現調節機構の知見を発表した。バイオテクの応用の面から、フランスのV. Petiard は、組織培養中に生じるソーマクローナル変異について概観し、また、ニンジン的人工種子製造のための体細胞胚発生に及ぼす要因を解析して、10ℓのバイオリアクターでの実験結果から100万個の胚増殖が可能であることを明らかにした。ベルギーのM. Van Montagu は、アグロバクテリウムを媒介にしてタバコおよびポテトに除草剤BASTA<sup>®</sup>の有効成分ホスフィノトリシン抵抗性の遺伝子を導入したことを報告し、2年以内に除草剤-抵抗性品種の組合せが実用化される見込みであると述べた。さらに、バイオテクをとりまく法律経済の面から、J. Warcoin は種苗登録および特許による保護について、その現状と問題点を整理し、法制化が研究上の革新および発明の実態を十分にカバーできないことを指摘した。種苗会社で品種改良に携わってきたM. Desprez は、種子産業の世界的な状況をみたと、現在、品種改





会場風景

良に利用されているバイテク技術を紹介し、バイテクを品種改良に用いる道具とみなして、育種家とバイテク技術の関係を指揮者とオーケストラの関係にたとえた。また、S. Steckは、バイテクに向けての世界の大企業の動きを分析し、化学・石油・製薬の分野によってその戦略は異なるが、主製品に関連する領域に進出し多角化をはかろうとしていることを指摘した。最後に、ヤシの大量増殖技術の開発において、最終産物の評価が不十分であったため、4～5年後生長した株に不稔が続発したという失敗例も紹介された。

フランスはヨーロッパ随一の農業国である。約950万 haの穀類の作付とEC 10カ国全体の約1/4を占める農業生産がその実績である。このことは、ちょうど2週間前に、バイオエキスポと同一の会場で開催された国際農業博覧会が、バスを連らねた農業団体の見学者で大盛況であったことによっても裏づけられる。

一方、フランスの民間・公共を合わせた全研究開発費は約1,000億フランであり、アメリカおよび日本のそれぞれ約1/8および1/3にすぎない。しかし、フランスにおける科学研究は、EC諸国の科学技術協力計画(EURÈKA)に組み込まれており、EC全体としてみたとき、農産物・食品の飛躍的生産拡大という期待がかけられたバイテクの研究開発において、アメリカおよび日本と並らぶ大きな勢力となっていることは確かである。そして、フランス国内では、公的研究機関のCNRS(科学技術者)、INRA(農業省)、INSERM(厚生省)などにおける研究推進体制を調整した計画(Essor des biotechnologies)のもとで、強力に進められている。今回のバイオエキスポ87の開催は、フランスのバイテクに対する熱意のあらわれとみることができる。

(1987年3月31日記)



特別情報

## 第 6 回国際植物培養学会より 水稲・大麦・小麦・大豆の研究進捗状況

農林水産省農業生物資源研究所

### 水 稲

発 表 者	国 名	分 類	要 約
Wang, Y.C.	U.S.A.	Regeneration	授精後未熟胚→カルス→分化再生固体
Lai, K.L.	China (Taiwan)	"	幼胚→カルス→2年間継代培養→分化再生 (水ストレス・塩ストレス分化に効果)
Liu, L.F.	China (Taiwan)	"	水ストレス→分化促進 (分化に関連する蛋白 解析)
Reddy, G.M.	India	"	花穂→カルス→植物体再生(半数体10~15%)
Junc, R.C.	U.S.A.	"	未熟花穂→カルス→高頻度で再分化→5000個 体以上再生
Zapata, F.J.	Philippines	"	薬由来カルス→植物体再生(ABA処理により 分化促進)
Vajrabhaya, T.	Thailand	"	Callus経由(再生にSucrose濃度低下とココナ ットミルク有効)
Kavi Kishar, P.	India	Organogenesis	浸透圧の調整によって長期間にわたる分化能 の維持
Toriyama, K.	Japan	Protoplast→再生	薬, 花穂→Suspension cell→プロトプラスト →コロニー→カルス→再生個体
Shimamoto, K.	Japan	"	Embryo 由来カルス→プロトプラスト→カル ス→再生
Fujimura, T.	Japan	"	未熟胚由来, Selected cells→プロトプラスト →カルス→再生個体→開花→種子
Zimny, J.	F.R.G.	"	①根端→Callus→Suspension→再生個体  プロトプラスト一分裂 ②Plasmid pBL 1103-4利用, ネオマイシンフ ォスフォートランスフェラーゼ II gene 取り 込み タバコとの比較(イネ分裂なし) Cell Suspension→Protoplast→分裂(V. Taipei309)(Heat-shockがプロトプラスト活 性分裂に有効) 胚, 葉, 薬, 根→Callus→Protoplasts Agarose 効果あり(0.6~1.2%) 153種の <i>Oryza</i> species について調査 Callus形成, Protoplast 分離・分裂と Geno- type の関係 プロトプラスト→コロニー→Globular em- bryo→Embryo→Plant イネと大豆カルスの融合
Tsai, Y.Z.	China(Taiwan)	Protoplast Culture	
Warburton, J. (Cocking)	U.K.	Protoplast Culture System	
Thompson, J. (Cocking)	U.K.	"	
Mori, K.	Japan	Callus & Protoplast Culture	
Abdullah, R.	U.K.	Somatic Embryogenesis (プロトプラスト由来)	
Niizeki, M.	Japan	Somatic Hybrid Callus	
Chand, S. (Cocking)	U.K.	Cell Culture	Indica, 大部分の品種 Callus化→ Embryogenic Nonembryogenic →embryo genic system
Vajrabhaya, M.	Thailand	Callus Culture	未熟胚, 成熟胚由来カルスの分化能の比較
Zhu Deyao	China	Anther Culture	半数体を利用したハイブリッド作出
Uchimiya, H.	Japan	形質転換	プラスミド利用, カナマイシン耐性株得る (タバコ)
Adkins, S.	Australia	Tolerance	耐水性(Submergence-tolerant) イネ→種子 カルス分離, カルスの生理的性状調べる, 目的 ・耐水性機構の解明
Shiraishi, T.	Australia	"	Submergence tolerance Tolerant callusと Non-tolerant callus の生 理学的性質解明
Schaeffer, G.	U.S.A.	Selection	Callus→高 Lys. + Thr. 培地で培養, 再生→種 子(高 Hys. 含量種子生産)
Wakasa, K.	Japan	"	5 methyl tryptophan resistant rice の作出
Oono K.	Japan	Somatic Mutation	DNA の解析

大 麦

発 表 者	国 名	分 類	要 約
Lührs, R.	F.R.G.	Embryogenesis	未熟胚42系統中 Somatic embryogenesis→Plant (19系統) 900個体得る, プロトプラスト→Callus (ゴールデンプロミス)
Jensen, C.	Sweden	"	再生は未 (実験中) ゴールデンプロミス 未熟胚 (半数体) →Callus→Somatic embryo→Plant
Roberts, S.	U.K.	"	Pollen→Embryogenesis
Cardenas, L.	Philippines	"	Mesocotyl→Callus→Cell suspension Culture(Dark)→Embryoid→完全植物体
Yuasa, M.	Japan	Morphogenesis	2~7日 Old seedling→各器官→Callus 誘導 (一部 Callus 再生個体)
Dunwell, J.	U.K.	Androgenesis	花粉から個体形成能, 遺伝的要因解析 1 核時 穂採取 4℃ 28日, MS+BAP, IAA 個体再生率
Sorvari, S.	Finland	Anther Culture	Media, 寒天よりも Starch media (Gelatinized) の方が個体再生率高い 約1,000→Embryoid 49→個体16
Datta, S.	F.R.G.	Androgenesis	Conditioning medium の検討, Ficoll を加え好成績
Aggarwal, R.	India	Tolerance	多くの Genotype 中で Callus 増殖の NaCl Tolerant 比較 抵抗性カルスはプロリンおよび K <sup>+</sup> が高い含量
Jensen, C.	Sweden	試験管内受精	試験管内受精により Ovaries および Ovules を得る
YE, J.M.	Canada	Tolerance	花粉培養により Salt-tolerant genotype の選抜
Breiman, A.	Israel	Somaclonal Variation	Callus→Plant 再生植物のうち約10%で体細胞変異
Lörz, H.	F.R.G.	Gene Transformation	Review
Powell, W.	U.K.		Review

小 麦

発 表 者	国 名	分 類	要 約
Karad, M.	Bulgaria	Embryogenesis	Cell suspension culture→寒天培地→Embryoid 作出
Lazarm, D.	Canada	"	Anther および未熟胚→Callus→Embryoid genotype により相違, 春小麦より冬小麦で植物体への再生率高い
Armstrong, T.	U.S.A.	"	Anther→Pl media→Callus→Embryoid-like structure
Chlyah, H.	Morocco	"	未熟胚・成熟胚→細断 Explant→Callus→Embryo-like structure
Ishii, C.	Japan	" (Protoplast)	未熟花穂→Callus→Somatic embryo 作出 ↓ Protoplast 実験中……再生
Stolarz, A.	F.R.G.	Embryogenesis Protoplast Culture	①未熟胚→Callus→Somatic embryo (80~100%) ②Cell suspension culture (Highly embryonic callus) →Protoplasts→分離→分裂→カルスまで
Orshinsky, B.	Canada	Organogenesis	未熟胚→Callus→Shoot 再生 (MS 2,4 D 0.5mg/l), 継代培養中の Regeneration ability について検討
Smith, W.	U.S.A.	"	未熟葉の葉片培養→Callus→Shoot→Plants
Qureshi, J.	Canada	"	未熟胚→Callus→Shoot production ↓ Germination
Harms, H.	F.R.G.	Cell Suspension Culture	代謝生理研究への応用
Kasha, K.	Canada	Anther Culture	Anther culture system の改良
Schmid, J.	Switzerland	"	"
Metz, S.	U.S.A.	"	育種への実際的利用
Kumar, A.	India	Callus Culture	Apical meristem からのカルス誘導, 緑化カルスの誘導
Datta, S.	F.R.G.	Androgenesis	花粉→Regeneration 高頻度
Huang, B.	U.S.A.	"	Anther 15, 20, 25, 30, 35℃で培養 35℃で Green pollen plant→最大 Anther culture→半数体倍化→品種育成
De Buyser, J.	France	Anther Culture	400カ Anther culture N6 培地 46 の Green plant を作出
Daofen, H.	China	"	染色体倍化処理, 28個体が種子形成



小 麦

発 表 者	国 名	分 類	要 約
Sasakuma, T.	Japan	Chromosome Variation	未熟胚→Callus→再生植物→(形態異常) ↑ Cyclohexanol
Kinoshita, T. Jones, K.	Japan U.K.	Resistance Electroporation	種子由来カルス, ストレプトマイシン耐性 Cell suspension culture→Protoplast ↑ CATgene
Gaponenko, A.K.	U.S.S.R. (?)	Somaclonal Variation	1170再生個体 (Callusより) 5~75%の範囲で変異 (茎長, 抵抗性 Gliadin component)

大 豆

発 表 者	国 名	分 類	要 約
Kerns, H.R.	U.S.A.	Embryogenesis	未熟胚 (4~8mm) MS+NAA embryoid形成過程, 組織学的観察, Cotyledonの表皮細胞直下 Meristematic division出現, Embryoidとして発達, 完全な植物体へ
Jacobsen, H.	F.R.G.	"	Callus→液体培養→Embryo-like structureを多く認める
Lazzeri, P.A.	U.S.A.	"	未熟胚由来子葉 MS+NAA→(10~30mg/l)+2, 4D 2.5mg/l embryoid, Embryoid NAA 0.05mg/l Cytokinin 0.03mg/lで植物体へ他 Single cell embryogenesis system の検討
Hautweck, L.	U.S.A.	"	未熟胚 (4mm) Cotyledon MS 2, 4D 2.5mg/l or NAA 10mg/l Embryoのタイプ, また, 形成過程の組織学的観察
Ranch, J.P.	U.S.A.	"	未熟胚 6 genotype MS+22.6μM 2, 4D > Best 0.857M, Sucrose
Hu, C.Y.	U.S.A.	"	未熟胚 (発育段階3段階) L.S mediumで培養胚柄の付着の有無で比較
Ward, D.	U.S.A.	Morphogenesis	V. Wayne, Essex 初生葉/半葉にタテに切断 Explantとする, B5+2, 4, 5T 40mg/l BA 5 μMで Small bud 又は Shoot 形成→植物体→採種 変異なし
Hammatt, N.	U.K.	Regeneration	Callus→Shoot 野生種
Myers, J.R.	U.S.A.	Protoplast Culture System	Protoplast—再生 <i>Glycine Max</i> —× <i>Glycine Canescens</i> —○
Weber, G.	F.R.G.	Protoplast	Protoplast—Regeneration <i>Glycine Max</i> の Suspension culture→Protoplast→同調化
Rogers, S. Guan, Y. Barwale, U.	U.S.A. U.S.A. U.S.A.	Invitro Selection Selection	Carbon metabolism <i>Phialophora gregeta</i> 抵抗性選抜 胚様体由来個体について βプロリンアナログ他除草剤グリフオサイト, パラコート, アトラジン耐性個体の選抜
Chowdhury, U.	India	Tolerance (Herbicide)	Soybean <i>G. Canescens</i> の Cell cultureで除草剤耐性の比較
Nanda, K. Owens, L.	U.S.A. U.S.A.	Mutant Selection 形質転換	重金属耐性培養細胞の選抜 大豆 Cotyledon- <i>Agrobacterium</i> を用いバイナリーベクターを利用してカナマイシン耐性とホルモン非要求性株 (カルス) の作出
Pierson, P.	U.S.A.	"	カナマイシン耐性遺伝子 <i>Agrobacterium T.</i> を用い, Tumor tissueでカナマイシン耐性発現
Willy, L.	D.E.	"	Cotyledon 由来プロトプラスト→カルス→分化→再生 Chimaeric Gene→Soybean cellに入れる PEG—Electroporation, 個体再生
Goldberg, B.	U.S.A.	Gene-Transformation	Soybean protein→Tobacco plantへ (using Ti plasmid vector)
Stahlhut, R.	U.S.A.	Metabolism	大豆培養細胞における Urcide, Allantoin の同化
Reporter, M.	U.S.A.	Cell Culture	生長比較

BRAIN テクノフォーラム

昆虫の生体情報に学ぶ新技術

開催のお知らせ

生研機構 (BRAIN) では、すでに4回のBRAIN テクノフォーラムを開催し、その内容も“ナースリーシステム”、“稲の育種”、“畜産バイオ”等各分野に広がってきました。次のフォーラムは表題のように、昆虫の情報伝達機能に注目した内容で下記のとおり開催することになりました。改めて御案内いたしますが予め御承知いただき多くの皆様が参加下さるよう御案内申し上げます。

記

日時 昭和62年10月29日(木)10.00~16.30  
場所 東京大学山上会館(東京都文京区本郷)

講師および演題(予定)

1. Dr J.G.Hirdebrand (アリゾナ州立大教授)

「Neuro-chemistry and physiology of insects」訳、解説つき

2. 満井 喬氏(理化学研究所主任研究員)

「昆虫の発生制御物質とその利用への展望」

3. 赤井 弘氏(蚕糸試験場 蚕生理第一研究室長)

「昆虫の内分泌機構と発育制御」

4. 総合討論

座長 梅谷猷二氏(農研センター総合研究官)

参加費 一人15,000円(資料、昼食費を含む)

問合せ先 生研機構 企画部 Tel.03-205-6565

生研機構  
出版案内

農林水産 ジーンバンク

『植物遺伝資源配布目録』

生研機構では、貴重な遺伝資源を広く活用していただくために、遺伝資源配布のあっせんを行っています。この「植物遺伝資源配布目録」は、企業の皆さんの研究開発に、農林水産ジーンバンクの遺伝資源をより多く活用していただこうと、農林水産省から版權使用許可を得て発行したものです。

この目録に掲載されているのは、主として品種名等所在情報のみですが、その生育特性などのパスポートデータについては、御希望により生研機構が照会のお手つだいをします。

遺伝資源をより多く有効に御利用いただくために実費にてお頒けいたします。どうぞ御検討の上、注文いただくよう御案内いたします。

仕様

B5版上製 416頁

表紙NTラシャ、クルミ、ダークグリーン

内容

利用手引

目次(植物名)

品種名一覧(41,646品種)

植物遺伝資源配布規定

植物別の種子配布用品種数、品種当たりの

受入種子量ならびに配布種子単位量

原産地コード

植物名の索引

頒価(送料込み)

2,500円(ただし生研機構への出資者2,000円)

編集後記

BRAIN テクノニュースの創刊号をおとどけいたします。バイオテクノロジー研究の進歩の早さにおいっついて行ける情報誌を作ることのむずかしさを改めて痛感いたしました。創刊号を編集するにあたっては、国立研究機関の皆様をはじめ、多くの方々から貴重な原稿や資料を寄せていただきました。単なる情報のられつでなく、しかもひとりよがりのま

とめにおちいらぬようにしたいと希望は大きかったのですが必ずしも思うにまかせません。

これから読者の皆様の厳しい御批判や御教示をいただいて、少しずつ良いBRAIN テクノニュースにして行きたいと考えております。編集の中で取り上げてほしい分野や内容など御注文をお寄せいただければ幸いです。(松田)

ブレイン テクノニュース (創刊号)

---

昭和62年 9月20日発行

発行者 渡邊 五郎

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構

東京都新宿区新宿6丁目24-16 日本生命新宿6丁目ビル3F  
TEL. 03-205-6565 FAX. 03-205-6566

編集 農林水産技術情報協会

東京都中央区日本橋兜町15-6 製粉会館6F  
TEL. 03-667-8931 FAX. 03-667-8933

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 1987