

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

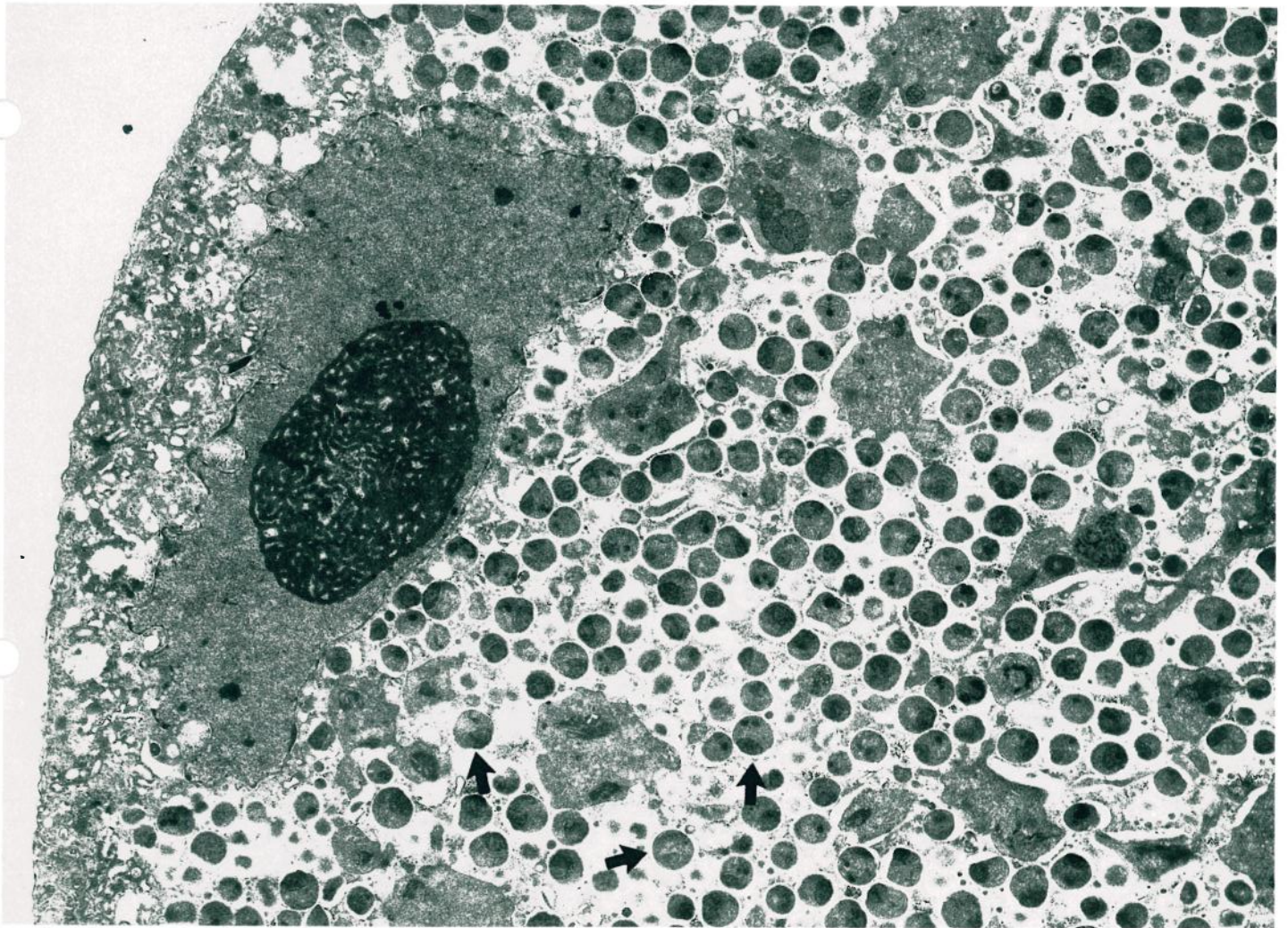
TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 8 号

JULY 15, 1988



牛の小型ピロプラズマ病の病原体 *Theileria sergenti* のスポロゾイトの電顕写真
多数のスポロゾイト(矢印)がマゲシマチマダニの唾液腺胞のE細胞に寄生している状態
(本文 1 ページ参照)
神尾次彦ら原図

国内情報..... 1
ピロプラズマ病, サケ白子DNA
雄性不稔, 抗ウイルス蛋白, バイオナー
サリーシステム
文献情報..... 15
バイナリーベクター利用, 生物工学的
診断等
外国特派員便り..... 21
お知らせ..... 24

本号の紙面

目 次

国内情報

- 小型ピロプラズマ病研究の現状と展望…………… 1
- サケ白子からの高純度デオキシリボ核酸抽出技術の開発…………… 3
- 雄性不稔細胞質とその稔性回復遺伝子の育成
技術の確立 (*Brassica*属)…………… 6
- オシロイバナ培養細胞による抗植物ウイルス
タンパク質の生産…………… 9
- バイオナーサリーシステム研究の進展…………… 12

文献情報

- Agrobacterium tumefaciens* バイナリーベクター
を利用するジャガイモの急速な形質転換法…………… 15
- トウガラシ斑点細菌病菌の宿主の抵抗性回避の
分子学的解明…………… 16
- ダイズにおける子葉節の茎葉増殖能力と懸濁
培養からの不定胚形成能力との関係…………… 17
- 生物工学的病害診断…………… 18
- ピエゾバルブを装備したセルソーターによる健全
プロトプラストの分取…………… 19

外国特派員便り

- スリランカ再訪の記——20年を経過して…………… 21

お知らせ

- BRAIN 国際テクノフォーラム
遺伝子組換えによる植物の改良…………… 24

雄性不稔細胞質とその稔性回復遺伝子の育成技術の確立



細胞質雄性不稔花の特徴

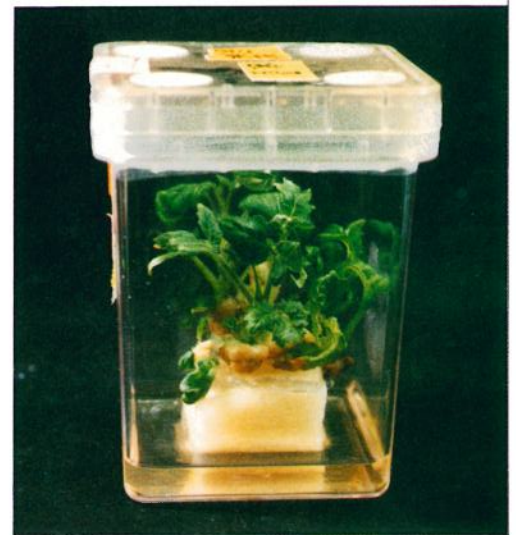
左：雄性不稔系統 右：維持系統

(本文 6 ページ参照)

バイオナーサリーシステム研究の進展



アスパラガス体細胞胚の発育過程



簡易環境制御培養容器による
トマト不定芽の生長

(本文 12 ページ参照)

国内情報

小型ピロプラズマ病研究の現状と展望

農林水産省家畜衛生試験場

藤崎幸蔵

1. はじめに

肉用牛、乳用牛の放牧においてみられる小型ピロプラズマ病は、放牧牛の衛生事故発生率および死産事故頭数ともに第1位を占め、畜産振興上重要な問題となっている。昭和60年から4か年の予定で開始された農水省の特別研究「小型ピロプラズマの増殖機構の解明および疾病予防に関する研究」は、それまで十分に検討されていなかった病原体の *Theileria sergenti*^{*} の発育環を明らかにするとともに、ピロプラズマやスポロゾイトなど発育期を異にする原虫の分離・増殖法を確立することによって、新たな血清診断法や予防ワクチンの開発に資することを目的としていた。本稿ではこの特別研究で得られた成果の中から主要なものを二、三選んで紹介したい。

注*) 小型ピロプラズマ病の病原体の学名については、近年 Uilenberg ら¹⁾ によって、*Theileria orientalis* もしくは *T. buffeli* を用いるべきであるとの指摘がなされている。しかし、これは十分な実証に基づく見解とは考えられないので、系統的な比較実験の成績ができるまでのしばらくの間は従来から使用されている *T. sergenti* を用いるのが妥当と考えられる。

2. 牛体内における赤外型原虫の検出

T. sergenti 感染牛体内の発育期としては、古くから赤血球内寄生原虫 (piroplasm, 以下赤内型原虫) のみが知られていた。しかし、これらの原虫が流血中に出現するには、ダニ

吸着後2週間程度の日数が必要であり、この潜伏期間中における原虫の発育部位や増殖様式については不明のまま残されていた。海外に分布する *T. parva* などの他のタイレリア原虫では、ダニの唾液とともに牛に侵入したスポロゾイトが、リンパ球に寄生してシゾゴニーを行なった後に赤内型原虫が出現することが知られているので、南ら²⁾ はリンパ節内におけるシゾゴニーの有無について検討することにした。彼らは *T. sergenti* 感染フタトゲチマダニ *Haemaphysalis longicornis* の若成虫の破碎液または唾液腺乳剤を作成し、脾臓摘出牛10頭を用い1頭あたりダニ70~200匹分を耳下腺下リンパ節または浅頸リンパ節近くの皮下に接種した。そして、接種後4~6日目から両リンパ節を毎日生検 (バイオプシー) し、光顕的検索を行った (表1)。その結果、10頭中5例において、接種後おおむね8日目にマクロシズント、ミクロンズン

表1 *T. sergenti* 感染ダニの唾液腺乳剤及び破碎液接種牛における赤外型期の検出

牛番号	接種量	赤内型出現前の発熱 (40°C以上, Dpi)	赤外型の検出 (Dpi)		赤内型の 潜伏期 (Dpi)
			シズント	ミクロメロゾイト	
1	70匹分	—	—	—	10
2	70 "	—	7—8	8	9
3	70 "	8 (40.4)	8—9	7—9	12
4	94 "	—	8	8	*
5	94 "	—	—	—	9
6	100 "	8 (40.0)	8—9	8	14
7	100 "	8 (40.1)	—	—	14
8	100 "	8 (40.1)	—	—	12
9	100 "	—	—	—	10
10	N200 "	8 (40.2)	8	—	12

Dpi: 接種後日数。*: 接種後8日目死亡

ト、およびマイクロメロゾイトの3発育期が観察され、*T. sergenti*の増殖様式の一部としての牛体内における赤外型原虫の存在が初めて明らかになった。ここで注目されるのは、*T. sergenti*のマクロシズントは*T. parva*、*T. mutans*、*T. annulata*および*T. taurotragi*と異なり、細胞外に形成されていたことである。したがって、他のタイレリアに存在する細胞内シズントの存否については、今後さらに検討を加える余地が残されている。なお、以上の成績はギムザ染色と蛍光抗体法によって得られたものであり、赤外型原虫の検出には熟練と長時間の観察を必要とした。しかし、その後河津ら³⁾は*T. sergenti*感染牛の血清IgG分画を用いたペルオキシダーゼ標識抗体を作成し、酵素抗体法によるシズントの効率的探索を可能としている。

一方、このようなパイオプシーによる赤外型原虫の観察とは別に、佐藤ら⁴⁾はフタトゲチマダニの感染若虫300匹を吸血後10日目の牛を解剖(剖検)し、全身の各臓器について赤外型原虫を調べた。その結果、リンパ節と肝臓・脾臓の実質内に、好塩基性の粒状~微細顆粒状物からなる直径数100 μ の大きな集塊が多数検出された。これらは先述の酵素抗体法で強い陽性を示し、電顕による観察では周囲に膜様構造を有することが観認され、赤外型の*T. sergenti*であると考えられた。この種の巨大な発育期が赤内型原虫出現前に肝臓などに多数検出されるタイレリアは他になく、形状はむしろ*Leucocytozoon*や*Haemoproteus*などのメガロシズントに類似していることから、この巨大な虫体について今後研究することは、*T. sergenti*の発育環の解明だけでなく、その発生・分化と分類学的位置を明らかにするためにも重要と考えられる。

3. スポロゾイトの効率的産生法と抗スポロゾイト抗体の検出

従来*T. sergenti*の分離株は、感染牛の血液を凍結保存することによって維持されてきた。しかし、この感染血液による継代は原株の性状を変える可能性があり、再現性にも問

題があった。そこで、今後はこのような問題の少ない発育期であるダニ唾液腺内スポロゾイトを、感染源や免疫原として用いる必要がある。しかし、スポロゾイトに関しては、感染した唾液腺細胞の検出法が確立されているのみで、虫体自体の姿・形や一腺細胞内の寄生数などが不明であり、その集虫保存法や定量化にあたって障害となっていた。神尾ら^{5, 6)}はこの障害を、(1)従来から媒介者として知られているフタトゲチマダニの唾液腺内にスポロゾイトを効率的にしかも多数増殖させるための最適条件を検討することと、(2)フタトゲチマダニ以上にスポロゾイトが増殖する新たな媒介マダニの検索、という2方面の研究を行なうことによって克服した。(1)の検討の結果、50%以上のダニにスポロゾイトを形成させるためには、牛の血流中の赤内型原虫寄生率が20%以上で寄生赤血球数が100万/mm³個以上時期にマダニを吸血させる必要があることや、感染牛から飽血落下した若虫を成虫に変態させる場合、飼育温度が23°Cのときに最も多くスポロゾイトが形成されることが明らかとなった。そして、このような知見をもとに作出されたスポロゾイト保有フタトゲチマダニの成虫を、家兎に一回あたり200~300匹づつ2週間隔で合計3回吸血させることによって、ラジオイムノアッセイ(固相法)による抗*T. sergenti*スポロゾイト抗体の検出が可能となった⁷⁾。この抗スポロゾイト抗体は、現在スポロゾイトの感染中和試験、スポロゾイトの抗原分析などの研究に利用されている。一方、(2)はフタトゲチマダニと分類学的に近縁(同亜属同群)のマダニの*T. sergenti*媒介能をスクリーニングする仕事から発展したもので、媒介能が新たに確認されたマゲシマチマダニ*H. mageshimaensis*⁸⁾では同一条件下でフタトゲチマダニの数倍ものスポロゾイトが形成されることが明らかとなった。この重度感染マゲシマチマダニを用いて、それまでフタトゲチマダニ体内では検出が困難だったスポロゾイトを、光顕的および電顕的に観察することが可能となった(表紙写真参照)。現在はスポロゾイト浮遊液内の虫体を牛接種前に確認し、分離・定量を行うための検討が

進められている。

4. 今後の展望

赤内型原虫を高圧窒素ガスで分離し、ELISA抗原として用いる清水ら⁹⁾の成績や、感染赤血球の解糖系酵素活性の変化を詳細に明らかにし、小型ピロプラズマ病の貧血機構をはじめ細胞生化学的に検討した八木ら¹⁰⁾の成績をはじめ、他にも重要な成果があがっているが、紙面の都合で割愛した。しかし、ケニアの国際獣疫研究所(ILRAD)における*T. parva*のワクチン開発の研究に比べれば、わが国の*T. sergenti*の研究は緒についたばかりであり、疾病の予防と防止に向けて解決しなければならない問題が山積したままの状態といわざるを得ない。したがって、当面は、有用なワクチン開発のために必要な基礎的研究と、この間のピロプラズマ病対策を充実するための研究、という2本立てで研究を推進するべきであると考えられる。

文 献

- 1) Morel, P. A. and G. Uilenberg(1981) *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* 34 : 139-143
- 2) 南哲郎・志村亀夫・藤崎幸蔵・神尾次彦・伊藤進午(1987) 第6回日独原虫病シンポジウム(ミュンヘン)
- 3) 河津信一郎・佐藤真澄・神尾次彦・横溝祐一・藤崎幸蔵・本間惣太・南哲郎(1988) 第105回日本獣医学会講演要旨
- 4) 佐藤真澄・河津信一郎・神尾次彦・志村亀夫・藤崎幸蔵・南哲郎・本間惣太(1988) 第105回日本獣医学会講演要旨
- 5) Kamio, T., K. Fujisaki and T. Minami(1988) *Ann. Trop. Med. Parasitol.* (投稿中)
- 6) Fujisaki, K. and T. Kamio(1988) *Jan. J. Vet. Sci.* 50 : 529-536
- 7) 神尾次彦・他9名(1987) 第103回日本獣医学会講演要旨
- 8) Fujisaki, K., T. Kamio, S. Kawazu, T. Minami, Y. Nakamura, K. Shimura, S. Shimizu and M. Henna(1988) *Ann. Trop. Med. Parasitol.* (印刷中)
- 9) Shimizu, S., K. Suzuki, K. Nakamura, K. Kadota, K. Fujisaki, S. Ito and T. Minami(1988) *Res. Vet. Sci.* (印刷中)
- 10) Yagi, Y., S. Furuuchi and H. Takahashi(1988) *Jpn. J. Vet. Sci.* 50 : 425-431

国内情報

サケ白子からの高純度デオキシリボ核酸抽出技術の開発

(財)テクノポリス函館技術振興協会
北海道工業技術センター
沢谷拓治

はじめに

水産資源の減少や国際的な200カイリ規制によって沿岸および遠洋漁業が不振となっている。この結果、一次産業のみならず水産加工業を始めとする二次産業にも大きな影響を及ぼし、極めて深刻な経済状況になっている。

近年の水産業は、「獲る漁業」から「育てる漁業」への事業の転換が図られているが、北海道においてはサケ、ニシン、ホタテ、イカ、イワシ、コンブ等の生産量、あるいは輸入量が他県に比べて多く、これらの限りある

水産資源の有効利用や高付加価値化が必要とされている。

一方、共同研究者である日本化学飼料株式会社(本社 函館)は、創業当初よりバイオマスの有効利用に着目し、イカの内臓やイワシからのミールや魚油の製造に止まらず、コレステロールやエイコサペンタエン酸(EPA)の抽出も行っている。

本研究は、未利用海洋バイオマスの高度有効利用を図ることを目的とし、水産未利用資源からの有用有機物質の効率的抽出技術を開発した。即ち、水産資源の量や含有する有用有機成分についての調査を行った結果、サケ

の白子に含有するデオキシリボ核酸 (DNA) を適度な分子量で、かつ高純度に、しかも効率的に抽出する技術を開発した。これは以下の理由による。

- ① 過去3年間の北海道におけるサケの漁獲量は毎年約10万トンであり、これとほぼ同量が輸入されている¹⁾。
- ② 魚体や卵は高級食品として利用されているが、白子については需要が少なく廃棄同然に処分されている。
- ③ 白子にはDNAが約5%含まれており、これは後に述べるように医薬品や化粧品の原料等利用価値が高い。

以下、本研究の概要について簡単に紹介する。

1. 実験方法

DNAの抽出——サケ白子1kgを割砕後、抽出、精製、乾燥してDNA粉末を得た。

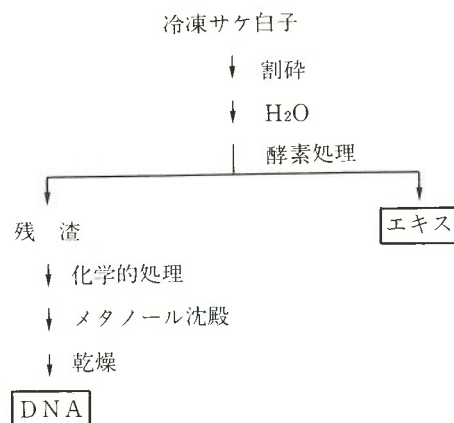


図1 サケ白子からのDNA抽出法の概略

DNAの性状試験——乾燥減量は105°Cで4時間加熱して求めた。ヒ素・重金属試験、総窒素量及び総リン量は衛生試験法に従って求めた²⁾。

DNAの純度及びヌクレオチド比率——Nuclease P₁を用いた緩和な条件下でDNAを加水分解し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で4種のモノヌクレオチド (5'-dCMP, 5'-dTMP, 5'-dAMP, 5'-dGMP) を個別に定量した³⁾。即ち、0.25% DNA, 20mM酢酸緩衝液 (pH 5.5) 10mlに、1 mg/ml Nuclease P₁ 0.1mlと1 mM ZnCl₂ 0.5

mlを加え、70°Cで4時間振盪後、ろ液をHPLCで分析した。カラムはYMC-A312 (6×150mm) を使用し、6% Na₂SO₄-0.4% KH₂PO₄溶液から1.5% Na₂SO₄-0.1% KH₂PO₄-22.5%メタノール溶液へのグラジエント (25分) で溶出した。検出波長は260nm。

DNAの分子量——HPLCを用い以下の条件で分析した。カラム: TSK gel G 3000SW (7.5×600mm), 移動相: 0.1Mリン酸緩衝液 (pH 6.8)-0.1M NaCl, 流速: 1.0ml/min, 検出: 260 nm, なお標品としてファルマシア社製ゲルろ過キャリブレーションキットを使用した。

タンパク質——ローリー・フォーリン法、又は酸加水分解 (6N HCl, 110°C, 22時間) -アミノ酸分析法で求めた。

リボ核酸 (RNA) ——DNAの純度測定操作によって得られたクロマトグラムの5'-CMPの値より求めた。

2. 実験結果及び考察

サケの白子には酸性物質であるDNAとRNAの他に、塩基性タンパク質であるプロタミンなどの有用な物質が含まれている。これらの成分の性質を考慮し、以下の方法によるDNAの抽出を試みた。

- ① 白子を酸溶液で処理してプロタミンを可溶化する。
- ② 残渣をアルカリ溶液で処理することによってRNAを分解し可溶性とする。
- ③ 中和後、アルコール添加によってDNAの沈殿を得、これを精製する。

この方法では各成分の分離が不十分であった。即ち、DNAにプロタミン等のタンパク質やRNAが混在し、DNAの純度は約65%と低い値であった。又、大量のアルコールを必要とする等工業化には不向きであると考えた。

次に、DNAの純度向上を目標として、カルシウム塩としてDNAを抽出した後ナトリウム塩に置換し、メタノール沈殿によって精製する改良法について検討した。あるいは、

抽出したDNAの分子量が数十万であるのに対して、混在しているタンパク質のそれは約1万であることを利用して Sephadex G50ゲルろ過クロマトグラフィー、又は、限外ろ過膜による精製、更に、イオンの性質の違いを利用したイオン交換クロマトグラフィーによる精製についても検討した。これらの方法の何れの場合もDNAの純度は約85%に向上したが、依然としてタンパク質が数%含まれており満足すべき結果が得られなかった。

以上の検討結果より、高純度のDNAを抽出するためにはある種の酵素による処理が有効であると考えた。すなわち最初に酵素処理を行って可溶部と残渣に分けた。次いで、残渣をアルカリや酸による化学的処理を行った後メタノール沈澱でDNAを得た。概略を図1に示したが、この抽出法は次の利点を有している。

- ① これ迄の方法に比べて工程が容易である。
- ② サケ白子中に含有するDNAをほぼ100%抽出可能。
- ③ DNA以外の部分は液化されてエキスとなる。即ち、白子の完全有効利用が図られる。

抽出したDNAは、純度89.4%、分子量約60万の無臭の白色粉末であった。なお、Schmidt-Thanhauser-Schneider法(STS法)⁴⁾による分析では、このDNAの純度は約95%という高い値ある。又、混在するタンパク質は0.86%と非常に低く、RNAはほとんど含まれていない。分析結果を表1にまとめて示したが、その他の分析結果も良好であり、適度な分子量の高品質なDNAであることが明らかとなった。

3. 今後の展望

本研究で開発した抽出技術は日本化学飼料㈱で企業化した。現在、パイロットプラントによる生産を開始し、年間10トンのDNA粉末を生産する計画である。生産された高純度のDNAは、後天性免疫不全症候群(AIDS)の治療薬であるアジドチミジン(AZT)や

表1 サケ白子から抽出したDNAの分析結果

外 観	白色粉末、無臭
総ヌクレオチド含量(%)	89.4
〈ヌクレオチド組成〉	
d-CMP	18.2
d-TMP	25.2
d-AMP	24.2
d-GMP	21.8
TOTAL	89.4
総 N 量 (%)	15.24
総 P 量 (%)	8.97
乾燥減量 (%)	1.0
R N A (%)	trace
蛋白質 (%)	0.86
無機塩 (%)	0.1
重金属	20ppm以下
ヒ素	2ppm以下
分子量(平均)	622,500

抗腫瘍性剤等の合成原料として、あるいは水性ゲル状化粧品の原料としての利用が見込まれている。

一方、DNAを抽出した残りの部分の完全液化にも成功し、これはエキスとして製品化する予定である。このエキスにはアルギニンが多く含まれていることから、肝機能を高め疲労回復の効果が期待されている。

又、この抽出法はニシンの白子にも適用可能であることが基礎試験で確認されており、この有効利用も図れる。

おわりに

本研究は、中小企業事業団より委託された「昭和62年度 函館地域加速的技術開発支援事業」の一環、およびその延長として北海道工業技術センターと日本化学飼料㈱が共同で行ったものである。

本研究の遂行にあたり、種々の御指導を頂いた北海道大学薬学部 上田亨教授並びに鎌滝哲也教授ら、そしてDNAの分析等に関してアドバイスを頂いたヤマサ醤油㈱研究開発部の方々に併せて感謝いたします。

文 献

1) 北海道水産部 (1986, '87, '88) 北海道水産現勢 (昭和59年, 60年, 61年版)
水産庁水産流通課 (1987) 水産貿易統計 (昭和61年版) 179

2) 日本薬学会編 (1980) 衛生試験法・注解 566, 834, 945, 金原出版
3) 国中明 (1985) 蛋白質・核酸・酵素 30:1253
4) 日本食品工業学会 (1984) 食品分析法 563, 光琳

国内情報

雄性不稔細胞質とその稔性回復遺伝子の育成技術の確立 (*Brassica*属)

農林水産省農業生物資源研究所

大川安信

1. はじめに

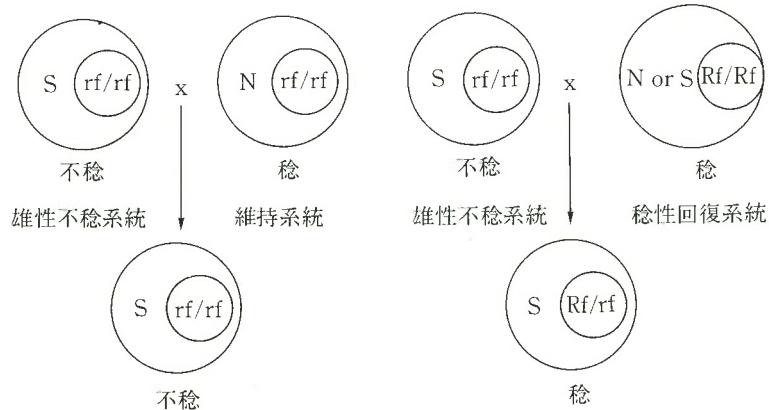
ヘテロシス効果を利用したハイブリッド品種の育成が喧伝されて久しい。しかし、その基本となるF₁種子の採種技術の確立は意外と困難である。両性花の植物では、雑種種子を得るためには同じ個体の花粉が受精にかかわらないようにしなければいけない。これには、自家不和合性や雄性不稔性といった性質を利用した採種体系を確立する必要がある。

ところで *Brassica* 属作物においては、*B.campestris* や *B.oleracea* 等で自家不和合性を用いた採種体系が確立している。しかし油料作物である *B.napus* には自家不和合性がなく、世界的にも雄性不稔性を利用したF₁品種の育成が望まれている。そこで以下に

我々が行ってきた *B.napus* における細胞質雄性不稔性の研究について紹介する。

2. (*nap*) CMS の発見と遺伝的解析

まず、細胞質雄性不稔性 (CMS) と、それを利用したF₁採種体系を理解していただくために、図1を見ていただきたい。細胞質雄性不稔性は細胞質に存在する不稔因子と核に存在する稔性回復遺伝子との相互作用で発現する。(nap) CMS の場合、細胞質に不稔因子があり (S細胞質) 核に優性の稔性回復遺伝子 (Rf) が存在する植物 (S)Rf/Rf あるいは (S)Rf/rf は花粉を作るが、(S)rf/rf の植物では花粉が形成されない。一方、不稔因子を持たない細胞質 (N細胞質) を持つ植物は不稔性を示さず、常に花粉を形成する。そ



雄性不稔系統の維持

F₁ 雑種の作成

図1 細胞質雄性不稔性の原理

ここでCMSを利用したF₁採種には①雄性不稔系統(S)rf/rf, ②維持系統(N)rf/rf——雄性不稔系統は花粉がないので, 系統の維持には花粉はできるが稔性回復遺伝子を持たない系統の花粉を受粉してやる必要がある——, そして*B.napus*のように種子を生産物として利用する作物では③稔性回復系統(S or N)Rf/Rfの3系統を育成しなければならない。

さて, *B.napus*においては志賀・馬場¹⁾およびThompson²⁾により相次いでCMSが報告され, その後この二つのCMSが同一のものであることが明らかにされた。これらはいずれも*B.napus*の品種どうしの交雑後代で発見されたため(*nap*)CMSと名付けられた³⁾(グラビヤ)。

このCMSをF₁採種に利用するため, まず雄性不稔個体に各品種を交雑し維持系統および稔性回復系統の探索を行った。その結果, 調査した162品種中3品種(イスズナタネ, ムラサキナタネ, Bronowski)のみが維持系統であり, 大部分の品種は稔性回復系統であることが明らかになった^{4, 5)}。すなわち, (*nap*)CMSでは農業形質の良い維持系統を育成する必要がある。

維持系統の育成には図2に示すようにまず維持系統に望ましい品種を交雑し, F₂集団を得る。次にこれらF₂個体を自殖するとともにその花粉を雄性不稔系統に交配する。そして雄性不稔系統とのF₁が不稔性を示したF₂個体の後代から新しい維持系統を育成する。このように維持系統の育成には長い年月を必要とする。

さて, 前述のように(*nap*)CMSのS細胞質は*B.napus*に存在している。そこで次にこのS細胞質を持った品種がどれ程存在するのか調査した。細胞質の種類は, 雄性不稔系統および維持系統を用い調べたい品種との疑似正逆交雑および戻交雑を行い, F₁・F₂・BC₁の稔性程度から推定した。その結果162品種中約2/3の品種はS細胞質を持っていた。すなわち, これらの品種に維持系統を戻交雑して行けば, 簡単に雄性不稔系統を育成できる。

ところで, 交雑によるS細胞質の同定は,

(N) rf/rf × (S or N) Rf/Rf

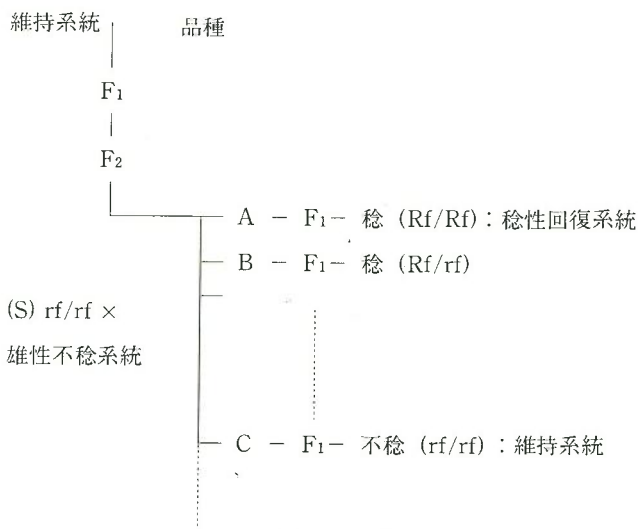


図2 維持系統の育成法(模式図)

確實だが年月のかかる方法である。一方, 葉緑体やミトコンドリアDNAの制限酵素による切断パターンによる細胞質の分類と, 不稔性による細胞質の分類とは, ほぼ合致した⁶⁾。そこで現在では交雑によらず, オルガネラDNAの分析によって迅速に大量の品種の細胞質をおおまかに推定できるようになった。また, この方法はCMSの発見されていない種において, 種内に存在するかもしれない雄性不稔細胞質を探索するのにも役立つであろう。すなわち, 少なくとも全く同じオルガネラDNAを持つ品種どうしの交雑後代からはCMSの個体は出現しないと思われるからである。

3. *B.napus*におけるCMS利用F₁品種育成の現状

現在, 我々の研究室では(*nap*)CMSを利用したF₁品種の育種は行っていない。しかし, 世界的にはいくつかの国においてCMSを利用した品種の育成が行われている。表1に現在知られている*B.napus*におけるCMSを示し, 各CMSを利用したF₁採種の研究の現状を紹介する。

まず(*Ogu*)CMSは*Raphanus*由来の細胞質が引き起こすCMSで, 細胞融合により葉緑体が*B.napus*のものに置き換えられクロロシスは克復された⁷⁾。しかし稔性回復遺

表1 *Brassica napus*に於ける細胞質雄性不稔性

呼称	細胞質の起源
(<i>Ogu</i>) CMS	<i>Raphanus</i>
(<i>Brar</i>) CMS	<i>B. juncea</i>
(<i>Anand</i>) CMS	"
(<i>nap</i>) CMS	<i>B. napus</i>
(<i>ctr</i>) CMS	"
(<i>pol</i>) CMS	"

伝子が *Brassica* 属に存在しないため、現在 *Raphanus* 属からの導入が図られている。

次に *B. juncea* 由来の細胞質が報告されているが、どちらもまだ遺伝解析が十分行われていず今後の研究が待たれるところである。

残りの (*nap*), (*pol*), (*ctr*) CMS は、いずれも *B. napus* に既に存在していた細胞質が引き起こす CMS である。(*nap*) CMS は不稔性の発現が栽培温度により影響され易く開花期に急激に気温が上昇する地域では花粉が形成されてしまう。(*ctr*) CMS は比較的新しく発見されたアトラジン耐性の CMS で、まだ完全な維持系統が育成されていない。(*pol*) CMS は (*nap*) CMS に比べて温度に対する不安定性が低く、比較的高温でも花粉が形成されない。維持系統は多い代わりに稔性回復系統が少ない。

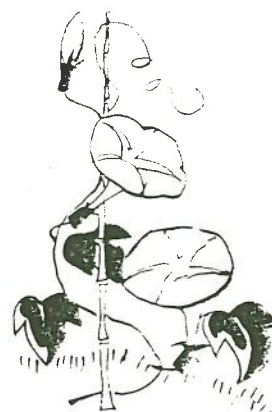
以上のように各 CMS とも長所・短所を持つが現在のところ (*pol*) CMS が一番 F₁ 採種利用に関する研究が進みカナダにおいては

連絡試験を行う段階までになっている。しかし実際に大規模な栽培試験を行うと、当初実験室レベルで予想されていた程の収量が上がらないこともわかってきた。一般に CMS を用いた採種は単位面積当たりの収量が減るためコスト高になり、その F₁ 種子を使った場合の増収効果がある程度ないとなかなか旧来の品種に置き換われない。おそらくこれが、未だ F₁ 品種が登録されない最大の理由であろう。

以上、*B. napus* を中心に CMS を利用した F₁ 品種育成について述べた。この育種法は従来の純系選抜法に比べて、雄性不稔系統・維持系統・稔性回復系統の 3 系統をひとまとまりとして育種しなければならず、より複雑である。しかしヘテロシス効果の大きな作物や数個の優性形質を同時にとり入れる場合には有効な方法である。

文 献

- 1) 志賀敏夫・馬場知(1973) 育種学雑誌, 23 : 187-197
- 2) Thompson, K. F.(1972) *Heredity* 29 : 253-257
- 3) Shiga, T.(1980) *Brassica crops and wild allies* 205-221
- 4) 志賀敏夫(1976) 農技研報 D27 : 1-101
- 5) Shiga, T., Y. Ohkawa and K. Takayanagi (1983) 農技研報 D35 : 103-124
- 6) Ohkawa, Y. and H. Uchimiya(1985) *Jpn. J. Genet.* 60 : 249-253



国内情報

オシロイバナ培養細胞による抗植物ウイルスタンパク質の生産

日本たばこ産業株式会社

池田 勉

はじめに

いくつかの高等植物、例えばヨウシュヤマゴボウ、カーネーション等の抽出液には植物ウイルスの感染を阻害するタンパク質が含まれていることが知られている。筆者らは多数の高等植物について、より強力な抗植物ウイルス物質を検索した。すなわち、タバコモザイクウイルス (TMV-OM) とタバコ (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi-nc) の系を用い、TMVを表側全葉に接種する24時間前に、試料を表または裏側半葉に処理する半葉法により局部病斑形成阻止効果を検定した。その結果、オシロイバナ (*Mirabilis jalapa* L.) の根・葉等の粗汁液に強力な植物ウイルス感染阻害物質が含まれていることを見いだした。この阻害物質は、葉の裏側に処理して表側からウイルスを接種しても有効であり、さらに下位葉を処理すると無処理の上位葉でもウイルスの感染が阻害され、またTMVをはじめとする各種ウイルスの接触感染を低濃度で阻害することが明らかになった¹⁾。またこの阻害物質を単離し、分子量24Kの塩基性タンパク質であることを明らかにした。このオシロイバナの根の抽出物はJ T8601として植物防疫協会等で薬効が検定され、植物ウイルスの感染阻止剤としての実用化が期待される結果が得られている²⁾。筆者らは培養細胞によりこのオシロイバナ抗植物ウイルスタンパク質 (MAP) を生産することを目的に本研究を行った。

1. 培養細胞における MAP の生成³⁾

オシロイバナの葉よりカルス誘導を行い、

さらにこのカルスを液内培養し、培養細胞を確立した。培養細胞の抽出液の抗植物ウイルス活性は、根の抽出液と同様に裏側処理でも認められ、また抽出液の90%飽和硫酸沈澱画分にも根と同様に活性が認められMAPによる活性と推察された。さらに Immunodiffusion test により MAP の生成を免疫学的に確認した。培養細胞の生育中の MAP 含量の経時変化を ELISA 法により調べたところ、対数増殖期後半から定常期に増加し、その後減少した。この定常期 (10日目) の MAP 含量は0.6mg/g乾重で、これは根 (2.3mg/g) の約1/3、葉 (0.2mg/g) の3倍であった。

2. MAP生産培地の作成のための培養条件の検討⁴⁾

培養条件の検討に当たっては、基本培地として、Murashige-Skoog (MS) 無機塩培地にチアミン1mg/l、2,4-D 0.5mg/l、スクロース3%を添加したもの (pH 6.0) を用い、培養は試験管に培地15mlを入れ、暗黒下、28°Cで、200回/分、振幅2cmの往復振盪培養機で行った。

その結果、以下のことが明らかとなった。基本培地に用いている2,4-Dは高濃度ではMAP生成を著しく抑制した。カイネチンやベンジルアデニンなどのサイトカイニンはMAP生成を抑制した。糖の種類と濃度について、スクロースとグルコースで初発糖濃度の影響を検討したところ、グルコースの方がMAP生成を抑制した。糖の種類と濃度についてであった。窒素源については、アンモニア態窒素と硝酸態窒素の割合を変化させてもMAP生成に著しい影響は認められなかった。た

だ硝酸態窒素のみの場合では MAP 生成が著しく抑制された。一方、基本培地のアンモニア態窒素と硝酸態窒素の割合を変えないで、総窒素源濃度を变化させたところ、総窒素源濃度が低い場合、MAP 生成が促進され、基本培地の 2/3 倍が至適であった。オシロイバナ培養細胞は対数増殖期後半より細胞が着色し褐変するが、この褐変した細胞を種培養として次代を培養すると誘導期が長くなり、生育も悪くなる傾向があった。この褐変抑制のために、MS 培地の各無機塩成分の影響を検討したところ、 KH_2PO_4 濃度を基本培地の 3 倍程度高くすると生育が促進され、褐変も抑制されることが明らかとなった⁵⁾。また、 KH_2PO_4 濃度を高くすると MAP 生成の促進も認められ、基本培地の 2~3 倍が至適であった。 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 濃度を低くすると MAP 生成が著しく促進され、基本培地の 1/20 が至適であった。その他微量無機成分については、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 及び KI にある程度 MAP 生成及び生育の促進効果が認められ、それぞれ基本培地の 5 倍、3 倍が至適であった。以上の結果をもとに、改良無機塩培地を作成し、これにチアミン 1 mg/l, 2,4-D 0.5 mg/l, スクロース 3% (pH 6.0) を添加した MAP 生産培地における MAP 生産性は基本培地の約 2 倍に向上した。

3. MAP 高生産能株の選抜育成と選抜株の性質⁶⁾

培養条件の検討中、培養細胞の MAP 生産能は継代培養を繰り返すと徐々に低下して行くことが明らかになった。このことから、MAP 生産性を維持、向上させるために MAP 高生産能株の選抜育成を行った。選抜操作を繰り返し、約 2500 株を分析した結果、第 9 回目の選抜で得られた H9-52 株の MAP 含量は 6.3 mg/g 乾重となり、これは親株の約 20 倍、根の約 3 倍に相当した (図-1)。このことは 2 次代謝産物や 1 次代謝産物の高生産能株の育成に用いられている細胞選抜が、MAP のようなタンパク質の高生産能株の選抜育成にも有効であることを示している。

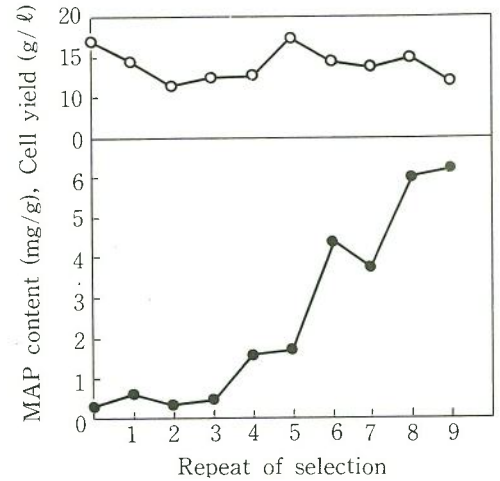


図1 選抜回数と高生産能株の MAP 含量

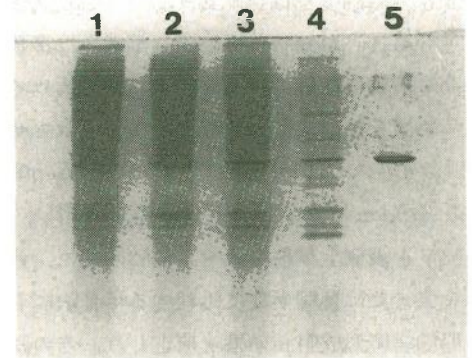


図2 親株、高生産能株および根の SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動
 1: 親株, 2: H4-56, 3: H8-50,
 4: 根, 5: MAP 1 µg
 1~4 は試料 50mg 乾重を 2ml のバッファーで抽出し、5 µl を供試した。

この高生産能株における MAP 含量の増加は、HPLC、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (図-2) 及びウエスタンブロッティング法により確認した。また、MAP が可溶性タンパクに占める割合は親株では 0.3% 程度であったが、H8-50 株では 6.5% にまで増加していた。この高生産能株より単離した MAP の抗ウイルス活性は根より単離した MAP と同等であった。一方、高生産能株の抽出液は根と比較して MAP 含量から計算されるよりも強い抗ウイルス活性が認められた。したがって、根よりもかなり高い活性を持った高生産能株が選抜育成されたことになる。

高生産能株の継代培養時における MAP 生産能の安定性は、選抜を繰り返すごとに高まり、H8-50 株では 13~14 代無選抜で継代培養しても MAP を安定して生産した。

4. MAP高生産能株の培養条件の検討⁷⁾

親株の培養条件の検討により作成したMAP生産培地を高生産能株用に改良するため、親株で効果の認められた無機塩成分について至適濃度を検討した。なお、MAPはHPLCにより定量した。CaCl₂・2H₂Oの濃度はMAP生成に著しい効果があり、基本培地の1/5が至適であった。しかし、CuSO₄・5H₂O、KIには効果が認められなかった。さらに、CaCl₂・2H₂Oの濃度が基本培地の1/5のもつとで、窒素源濃度、リン酸濃度について検討したところ、それぞれ基本培地に2/3、3倍が至適であった。以上の結果から高生産能株用生産培地を作成した。さらに天然栄養物の添加効果について検討したところ、カザミノ酸に効果が認められ、特に培養細胞がある程度生育した時点（7または8日目）での添加に効果が認められた。H8-50株のMAP生産性を高生産能株用生産培地で7日目にカザミノ酸を添加して検討したところ、0.2%の添加で95mg/ℓまで向上した。

一方、高生産能株の継代培養中の生産能の安定性が確認されているにもかかわらず、培養スケールが大きくなるにしたがい、生産性の著しい低下が認められ、これはフラスコで継代培養した場合にMAPの生産性が試験管で継代培養した場合の約1/2程度に低下することから確認された。このことからMAP生成については物理条件も重要な役割を果たしていることが推察された。そこで、フラスコに50~200mlの生産培地を入れ振盪培養したところ、50, 75mlでは生産性が低く、100, 150mlで生産性が高かったが、試験管での生産性には及ばなかった。また内側の2箇所突起の付いた3ℓ容三角フラスコを用いて回転培養を行った場合、突起付きは突起の無いもの

よりMAP含量が低いことなどから、MAP生成には酸素供給量のみでなく、振盪・攪拌等の条件も重要であることが示唆された。

おわりに

MAP高生産能株の選抜育成と生産培地等の開発により、根よりもかなり高い抗ウイルス活性を持つ培養細胞を得ることが可能となった。しかしながら、培養スケールが大きくなるにしたがい、生産性の低下が認められ、大量培養においては振盪・攪拌等の物理条件の設定が重要であることが明らかとなった。したがって、高生産能株のMAP生産性がより大きな培養スケールで再現できるように、ジャーフェーマンターによる大量培養法の検討が必要であり、培養細胞によるMAP生産法の確立もこれによるところが大きいと考えられる。

文 献

- 1) 高浪洋一(1987) 昭和62年度抗植物ウイルス剤に関するシンポジウム講演要旨
- 2) 梶原比呂志(1987) 今月の農業, 10月号, p. 95
- 3) Ikeda, T., Y. Takanami, S. Imaizumi, T. Matsumoto, Y. Mikami and S. Kubo(1987) *Plant Cell Reports*, 6: 216
- 4) Ikeda, T., K. Niino, J. Kataoka and T. Matsumoto(1987) *Agric. Biol. Chem.* 51: 3119
- 5) Ikeda, T., K. Niino, J. Kataoka and T. Matsumoto(1987) *Agric. Biol. Chem.* 51: 2611
- 6) Ikeda, T., J. Kataoka, Y. Konno, S. Imaizumi, S. Kuwata, Y. Takanami and T. Matsumoto(1988) *Agric. Biol. Chem.* 52: 1383
- 7) Ikeda, T., J. Kataoka, Y. Konno and T. Matsumoto(1988) *Agric. Biol. Chem.* 投稿中

国内情報

バイオナーサリーシステム研究の進展

農林水産省野菜・茶業試験場

西村繁夫

1. はじめに

バイオナーサリーシステムとはバイオテクを利用した育苗施設を意味する。62年度から農水省と民間企業との共同研究としてプロジェクト化され、4ヵ年計画で実施される。当初の研究計画は図1に示すとおりである。この中には六つの研究開発の要点が含まれている。第1は、培養による増殖効率をさらに高めるために、新しい増殖技術を開発すること、第2は、培養容器を大型化、自動化して、培養過程での大幅な省力化を実現すること、第3は、培養容器内の環境を制御することにより、培養組織あるいは幼植物の生長促進技術を開発すること、第4は、培養植物を容器から取り出した後に自然環境に順応させるための順

化技術を確認すること、第5は、種苗工場のような施設で、培養幼植物を低コストで、迅速に成苗化するための技術を開発すること、第6は、培養あるいは成苗化の過程で、植物ホルモンや弱毒ウイルスの接種等により苗の付加価値を高めるための技術を開発することである。

プロジェクトには野菜・茶業試験場を中心に、国側から8場所18研究室、企業側から25社の研究室が参加し、それぞれの研究課題を分担協力して研究を進めている。

私共の種苗工学研究室は、新しい増殖技術の開発、増殖容器の大型化と自動化、容器内環境制御による生長促進技術の開発等、主としてバイオナーサリーシステムの前半の技術開発に取り組んでいる。昨年度は、研究初年度であり、本格的な技術開発はこれからであ

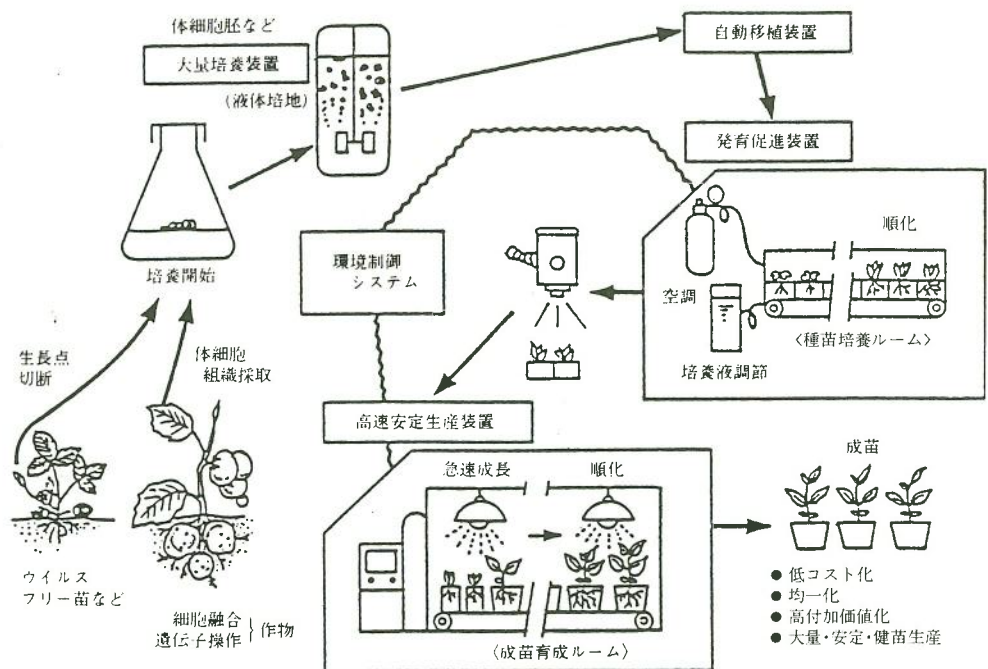


図1 バイオナーサリーシステムによる種苗生産 (農水省、1986)

るが、ここでは私達の研究室のこれまでの研究成果を紹介し、あわせて、どのような方向で今後の種苗大量増殖に対する技術開発を行っていくかについて述べる。

2. 効率的な大量増殖技術の開発

現在、実用的に用いられている増殖法は、主として「茎頂培養」と呼ばれる方法である。この方法は、広い範囲の植物に応用でき、遺伝変異のない安定した増殖技術である反面、増殖率が低い（2～10倍）こと、増殖芽の切り分けと移植に多大の労力を要する等の欠点がある。このため培養苗のコストの6割が労賃といわれる。多くの野菜では苗の値段が1本10円以下にならないと実用化することができないが、現在の方法ではどのようにしても50円以下にはならないのである。

このような現状から、さらに増殖率の高い、省力的な培養法を開発する必要があるが、そのような培養法として現在期待されているものに、苗条原基誘導法と体細胞胚誘導法がある。私達の研究室ではこれら両方法により野菜の増殖技術の開発を行っている。ここでは、昨年度成功したアスパラガスの体細胞胚誘導について述べる。

アスパラガスは雌雄異株の種子繁殖性作物であり、個体間差が著しいため、遺伝的に均一な優良個体の大量増殖が望まれている。また、最近、F₁ハイブリッド種子が生産されるようになったが、F₁親系統の栄養繁殖が困難なため、F₁種子の均一性が低い。茎頂培養による増殖も行われているが、順化過程での生存率が低い。そこで体細胞胚誘導による効率的な大量増殖法を開発することとした。

体細胞胚による増殖は、ニンジン等の例でよく知られているように、増殖率がきわめて高く（1000倍）、液体培地であればばらばらに遊離した状態で胚が誘導されてくる。したがって、培養の大型化、自動化を行いやすい。しかし、効率的、安定的に体細胞胚を誘導できる作物は、まだ数種に限られている。アスパラガスも体細胞胚誘導に成功したという報告は2、3あるものの、その効率性と安定性からい

ば、実用化にはほど遠い状態であった。

最近の体細胞胚誘導に関する研究の進歩から、胚形成能の高いカルス（Embryogenic callus, EC）を誘導し、これを増殖して、効率的、安定的な体細胞胚誘導技術を確立する方法がとられた。その結果、誘導されたカルスのうちECは1～数%であった。これらを選抜し、ECの性質を維持しながら増殖する条件を明らかにした。このカルスを再分化培地に移すと直径9cmのシャーレに100個以上の高い効率で胚が誘導された（グラビヤ）。このようにして、効率的、安定的な体細胞胚誘導のための第一関門が突破された。まだ、形成された胚に異常頻度が高く、発芽率も低い、正常に発育したものでは、健全な太い種子根が出ている。同様な結果が広島県農試でも得られており、今後の技術開発により、新しい実用技術が開発されるものと考えられる。

3. 簡易環境制御培養容器の開発

本プロジェクトの一環として、野菜・茶試・栽培システム研により、寒天に代わる植物組織支持体として、ポリエステル繊維のマットが培養幼植物の生育に良いことが明らかにされた。これは養液栽培のアイデアが培養に生かされ、成果を生んだものである。このシステムをトマトの子葉からの不定芽形成に応用した。その結果、寒天培地と同様に不定芽が再分化し、このシステムが増殖段階にも使えることがわかった（グラビヤ）。培地は溶液であるので移植することなく、必要な時期に更新できる。再分化する不定芽の数は、最初に植え付ける葉切片の大きさと培地のホルモン濃度により調節することができた。このようにして、これまでの不定芽再分化後の組織の切り分けと、寒天培地への数回の移植に要していた労力を一挙に十分の一程度に節減することが可能となった。さらに、ポリエステルに代わる支持体を検索したところ、育苗用に開発されたパルプ系マットの中に、トマトの不定芽形成とその後の発育にきわめて効果の高い支持体が見出された。

つぎに、培養容器内の環境制御である。これまでの培養法では、アルミホイル等で容器の口を封じたために、容器内のガス交換はほとんど行われないう状態であった。また湿度も100%で、過湿状態で植物を育ててきた。2、3年前まで、培養容器内の環境制御を試みた報告はほとんどなかった。最近、千葉大学の古在助教授のグループは、培養幼植物が葉を展開した直後から、容器内にCO₂を流し込み、光を10,000ルクス以上に上げることによって、幼植物の生長が飛躍的に高まることを見出した。画期的なことは、このような処理によって培養植物は光合成を盛んに行うようになり、独立栄養となるため、やがて培地の糖を必要としなくなることである。培地に糖を加えなければ、培養を無菌条件で行う必要はなくなる可能性がある。バイオナーサリー研究の中でも同様な研究が、野菜・茶試・ストレス研で行われている。

私達の研究室では、培養容器内の通気と湿度の調節を行って、不定芽や体細胞胚の形成とその後の生長を促進する目的で、無菌通気膜を用いた簡易環境制御容器を作製し、試験したところ、トマトの子葉から再分化した不定芽の生長が大幅に改善された。容器のふたに、無菌的に空気と水蒸気を通すテフロン製薄膜（ミリラップ、ミリポア社）が取り付けられた。通気膜を使用しなかった区では、植物体が徒長し、茎葉が黄緑色に近くなり、葉

の切れ込みがほとんど無く、表面の毛じが発達しなかった。一部の植物体は組織がやや透明化し、いわゆる水浸状の植物に近くなった。一方、適当な面積の通気膜を使用した区では茎葉が徒長することなく、コンパクトとなり、やや濃い緑で、葉に切れ込みが生じ、表面には多数の毛じが発達し、自然環境で育てた苗に近い健全な幼植物となった（グラビヤ）。このようにして養成されたトマトの幼植物は、これまでのように特別な順化の操作を行わないで、容易に成苗化できた。

以上のように、支持体を寒天から繊維マットに代え、培地を溶液にすることおよび培養容器内の環境を制御することにより、大幅な省力化と培養植物の生育の改善が行われた。今後は、これらの方法をさらに発展させ、できるだけ低コストで、培養容器の大型化と自動化を図っていく計画である。

4. おわりに

日本農業は、安い外国農産物の前に、一層のコスト削減と高品質化を求められている。そのような中で、バイオナーサリーシステムの開発研究が、低コストで良質の培養苗の生産を可能とし、苗生産の専門化に寄与することが期待される。ひいては日本農業の発展に貢献できれば幸いである。



文献情報

Agrobacterium tumefaciens バイナリーベクターを利用するジャガイモの急速な形質転換法

ジャガイモは、世界の多くの地域における重要な作物であり、体細胞交雑とそれによる変異個体作出のための組織培養技術が開発されてきた。しかし、*Agrobacterium* を媒介者とする形質転換の研究はそれほど進んではいない。ジャガイモは、野生型の *Agrobacterium* 系統によって形質転換されるけれども、形質転換されたシュートが形態的に正常で、急速に再生できるかという点が問題となっている。例えば、Ooms らは、非腫瘍性でシュートを誘導する *Agrobacterium* 系統を用い、正常な形態で形質転換したシュートを得ているが、8~16週間を要している。また、An ら (1986) は、カナマイシン抵抗性のバイナリーベクターでジャガイモの形質転換を報告しているが、5 ヶ月かかってカルス経由のシュートを得ている。著者らは、Horsch ら (1985) の考案した直接選抜とシュート誘導法を基礎として、より効率的かつ急速な遺伝子転移を試みた。

材料と方法 シュート再生培地(3C5Z R) は、MS の塩類、1 mg/l 塩酸チアミン、0.5 mg/l ニコチン酸、0.5 mg/l 塩酸ピリドキシン(R 3 ビタミン)、3% シュクロース、5 μ M ゼアチンリボサイド、そして 3 μ M アスパラギン酸 IAA を含み、pH を 5.9 とし、0.8% 寒天で固形化した。非腫瘍性カナマイシン抵抗性ベクター pBin 6 を含む *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404 をすべての感染実験に用いた。この系統は、使用前24時間に、50 μ g/ml カナマイシンを含む10mlの30°C LB 培地で培養され、遠心分離後、20mlのMS 培地中で懸濁して形質転換に用いた。

ウイルスフリーの5品種、すなわち、Pentland Dell, Desiree, Maris Piper, Maris Bard, そして Golden Wonder を材料とし、これらの塊茎の皮をむいて蒸留水で洗浄後10

%次亜塩素酸ナトリウム液で表面滅菌した。コルクボーラーとメスで直径1 cm、厚さ1~2 mmの塊茎ディスクを作り、このディスクを *Agrobacterium* を含む20mlのMS 培地に移して十分に吸湿させた。20分後、3C5Z R 培地の入ったプレートに塊茎ディスクを移し、更に、500 μ g/ml カーベニシリンと100 μ g/ml カナマイシンを含む培地で48時間培養した。塊茎ディスクは3週間ごとに新しい再生培地で培養し、4週間後にカーベニシリン濃度を200 μ g/mlに低下させた。再生したシュートは発根促進のため、MS 塩、R 3 ビタミン、200 μ g/ml⁻¹のカーベニシリンと100 μ g/ml⁻¹カナマイシンを含む大型試験管に移された。

結果および考察 予備実験の結果、3C5Z Rの培地がシュート再生に極めて有効であることがわかった。シュートの再生には品種間差異がみられ、Desiree がもっとも効果的であり、Pentland Dell でも若干の再生がみられた。また、塊茎ディスクの他に葉、茎の切片も培養して比較してみると、塊茎ディスクの場合に急速に均一なシュートが再生した。とりわけ Desiree と Pentland Dell の塊茎ディスクから多くのシュートが4週間以内に再生した。更に、塊茎の age も重要な要因であり、若くて固い塊茎が望ましく、4~6°C の貯蔵期間6 ヶ月以内の場合に再現性の良い結果が得られた。

Agrobacterium pBin 6 を含む培地に塊茎ディスクを加えて4週間経過すると、Desiree, Pentland Dell および Golden Wonder のディスクの9~20%からシュートが再生した。Desiree では、約半数のディスクに数多くの独立したシュートが再生した。カーベニシリンとカナマイシンを含む発根培地にシュートを移すと、多くの場合シュートの節から、また、若干の場合、切断面から発根した。形質転換しないシュートは、100 μ g/ml カナマイシンを含む培地で発根しなかった。200 以上の形質転換個体を調べてみると、100 個中1個体が形態的にも親植物とは明らかに異なっていた。

形質転換したと思われる8本のシュートを調べた結果、ノバリン合成酵素遺伝子をもつ

pBin 6と同様に、ノパリンが検出された。このノパリン陽性の Desiree 5 個体の DNA をサザン法で分析すると、T-DNA を含むことが明らかとなった。

ジャガイモの形質転換を試みた本方法には、通常法と比較すると、いくつかの利点がある。その第一は、形態的に正常なシュートがカルスを經由せずに得られ、体細胞の変異の頻度を低下させ得ることである。第二の利点は、貯蔵が容易で一定の大きさの材料となる塊茎ディスクを用いることによって、葉切片を材料にした場合より、形態も大きくしっかりした個体が得られることである。更に、4~6週間という短期間で形質転換個体が得られるのも利点である。したがって、著者らは、本方法がジャガイモ形質転換のための一般的な方法になるものと期待している。

(抄訳 山本友英)

A rapid transformation method for *Solanum tuberosum* using binary *Agrobacterium tumefaciens* vectors

Sheerman S. and M. W. Bevan

Plant Cell Reports 7: 13-16 (1988)

文献情報

トウガラシ斑点細菌病菌の宿主の抵抗性回避の分子学的解明

植物がある病原体に対して抵抗性であるか感受性であるかは、植物の遺伝子と病原体の遺伝子の相互作用で決定される。植物が動的抵抗性を発揮するには、第1ステップとして病原体と認識することが必要となってくる。しかし、病原体が変異を起こすことによってこの認識を回避できれば、抵抗性宿主にも病気を引き起こすことができるようになる。本報では、このような病原体の変異を分子学的に解明した。

Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria* (*Xcv*) は、トウガラシ (*Capsicum annuum*) に斑点細菌病を引き起こす。抵抗性遺伝子

Bs1 を持つトウガラシ (ECW10R) に、*Xcv* のレース 2 を接種すると抵抗性が発揮されて過敏反応が起きるが、レース 1 を接種すると水浸状の病斑が形成される。*Xcv* レース 2 は、ECW10R 上で過敏反応を特異的に誘導する遺伝子 *avr Bs1* を持ち、これが銅耐性遺伝子と共に自己伝達性のプラスミド (pXvCul) 上に存在していることは既に報告した。

そこで、ECW10R に病気を起こすことができるようになった *Xcv* レース 2 の 13 の自然発生突然変異体を供試して、*Xcv* がどのようにして抵抗性のあるトウガラシで病原力を獲得できるようになったのか検討を行った。13 の変異体のうち M1 と M13 は、水浸状の病斑を、M2 と M4 は中間的反応、すなわち M2 は部分的な壊死や水浸状の病斑を、M4 は野生型の *Xcv* より遅れて過敏反応を引き起こした。

この 13 変異体に *avrBs1* を含むプラスミドを導入し、ECW10R に接種すると全て過敏反応が引き起こされた。そこで、*avrBs1* に焦点をあて、検討を行った。

13 の変異体と野生型の *Xcv* レース 2 のトータル DNA を *EcoRV* で切断し、これを用いてサザンハイブリダイゼーションを行った結果、変異体の *avrBs1* の異なる領域にそれぞれ 1.2 Kb の DNA が挿入されていることが明らかになった。さらに、M1, M2, M4, M13 の *avrBs1* をクローニングし、制限酵素で解析を行った結果、それぞれに挿入されていた 1.2 Kb の DNA は、同一の制限酵素切断地図を持つことが明らかになり、独立な変異は同一のエレメントによって引き起こされることが示唆された。

次に、M1 に挿入された 1.2 Kb の DNA の塩基配列の決定を行った。その結果、この DNA は 1225 bp で、26 bp の不完全な反復配列と 4 bp の target-site duplication と二つの逆向きのオープンリーディングフレーム (1037 bp, 593 bp) が存在していた。このように、この DNA は典型的な細菌の挿入配列の構造を持ち、IS 476 と名付けた。

また、M1, M2, M4, M13 中の IS 476 の位置は、*avrBs1* のシーケンスによって決定

した。IS 476は、M1とM13では *avrBs₁* をコードしている領域に、M2とM4ではこの領域より上流に挿入されていた。M2とM4は ECW 10R に中間的な反応を引き起こすことから、IS 476はM2とM4では、*avrBs₁* の調節領域に挿入されていたことが示唆された。

さらに、IS 476はプラスミド pXvCul 上に3コピー存在し、そのうち少なくとも1コピーはアクティブなトランスポザブルエレメントであることが、サザンハイブリダイゼーションによって明らかになった。

また、IS 476は20年間にわたって採集した *Xcv* の銅耐性の菌株からのみサザンハイブリダイゼーションによって検出された。

IS 476の重要な点は、このような銅耐性とリンクしているところにあり、*Xcv* を防除しようとして使用されてきた銅剤の散布によって、*Xcv* をトウガラシの抵抗性から回避させることのできる IS 476がプラスミド pXvCul によって広まったことは、何とも皮肉なことである。

また、UCLA symposia on molecular and cellular biology (1988)のMolecular biology of plant-pathogen interactionsのセッションで、*Xcv* レース 1 には、抵抗性遺伝子 *Bs₃* を持つトウガラシ (ECW-30R) の過敏感反応を誘導する *avrBs₃* が自己伝達性のプラスミド上に存在していて、その中に注目すべき領域があることが報告された。

まだ有効なデータは少ないが、病原体で起る抵抗性宿主の認識を回避する変異は、トランスポドンが関与している可能性が高そうである。

また逆に、このようなトランスポソンを利用することによって病原菌の防除も可能になると思われる。今後の発展が大いに期待される。

(抄訳 宮坂 篤)

Molecular basis for evasion of plant host defence in bacterial spot disease of pepper

Keamey, B., P. Ronald, D. Dahlbeck and B. Staskawicz

Nature 332: 541-543 (1988)

文献情報

ダイズにおける子葉節の茎葉増殖能力と懸濁培養からの不定胚形成能力との関係

植物の遺伝子工学などを行う際に重要なことは、カルスから完全な植物体が再分化することである。ダイズは再分化がむずかしいものの一つとされてきた。最近になり、ダイズを含む *Glycine* 属の植物においてプロトプラストからの再分化やカルスからの不定胚形成などが報告されるようになってきた。しかしこれらも奇形であったり、完全な植物体には生長しないなど問題がある。その原因の一つとして、これらの研究では限られた品種しか扱っていないことがあると考えられる。培養における反応の遺伝子型差異はしばしば報告されているが、なおまだよく理解されていない。著者らは以前に、ダイズの実生の子葉節の、種々の BAP 濃度における茎葉増殖能力を調査し、品種によって異なっていることを報告した。また、すでに報告されているように、胚軸および子葉から形成されたカルスは、高濃度のしょ糖と 2,4-D を添加した液体培地中で不定胚を分化することもみ出した。予備実験の結果、この不定胚形成能力は品種によって異なるように思えたので、ここでは茎葉増殖能力と不定胚形成能力との間に相関があるか否かを検討した。

子葉節の茎葉増殖の実験から、ダイズ (*Glycine max* L. Merr.) 14 品種を選んで材料とした。その内訳は、茎葉増殖能力の高いもの(子葉節から9個以上の茎葉が生じるもの)4品種、中程度のもの(5~8個の茎葉)7品種、低いもの(4個以下の茎葉)3品種とした。それぞれ20個の種子を滅菌し、無菌的に発芽させた。5日後、胚軸が伸長し、子葉が展開しなかったものを、胚軸は約1cmに切り、子葉は軸から半分に切って、それぞれカルス誘導培地に置床した。培地としてはL2の無機塩に、ビタミン、2.5%しょ糖、0.2mg/ℓカイネチン、0.4mg/ℓ2,4-Dを添加した寒天培地を用いた。暗黒下25°Cで30~40日培

養した後、カルスを切りとり、上記培地のしょ糖を6%としてカイネチンを除いた液体培地に移し、回転培養を行った。21日後にこれをペトリ皿にあけて、不定胚を観察したところ、一つの例外を除いて、不定胚形成能力は茎葉増殖能力と正の相関があった。すなわち、子葉節の茎葉増殖能力の高い品種では多くの不定胚が形成され、低い品種では少数の不定胚しか形成されなかった。一つの例外とは、茎葉増殖能力が高いとされていた PI 30.692 の胚軸からのカルスから少数の不定胚しか形成されなかったことである。しかし、この品種は高濃度のサイトカイニンを添加した培地でのみ多数の茎葉が形成されたものであり、不定胚形成の際にも何らかのサイトカイニンが必要ではないのかと推測された。また、多くの不定胚が形成された品種では不定胚の形態も正常であったが、不定胚形成の少ない品種では異常な形態が多かった。しかしながら、見かけ上正常にみえた不定胚もなかなか完全な植物体へとは発育しなかった。不定胚の組織切片を作成して観察したところ、これらは上胚軸側が正常な発育をしていないことが判明した。一方、液体培地に移植してから7日目と21日目に新鮮重を測定したところ、培養でよく増殖して新鮮重の大きいものでは不定胚が少なく、新鮮重の少ないもので多くの不定胚が形成される傾向にあった。培養中の細胞の増殖と不定胚形成とは逆の関係にあるように思えた。

以上述べたように、カルスからの不定胚形成能力は、子葉節の茎葉増殖能力と大いに関係し、品種によって異なることが明らかとなった。品種を注意深く選ぶことによって、ダイズにおいても単細胞からの再分化系を作出することも可能であると考えられる。

(抄訳 有賀小海)

Correlation of cotyledonary node shoot proliferation and somatic embryoid development in suspension cultures of soybean (*Glycine max* L. Merr)

Kerns, H.R., U.B. Barwale, M.M. Meyer, Jr. and J. M. Widholm

Plant Cell Reports 5: 140-143 (1986)

文献情報

生物工学的病害診断

近年の植物学における生物工学的研究の進歩の波及効果の利益のひとつとして、血清や核酸プローブを用いた病害診断と、特定の病原体に対して特に感度の高い(特異性の高い)検出法の発展が挙げられる。診断試験はウィロイドから線虫にまで及ぶ広範囲な病原体に適用され、公的にも商業的にも広く利用されている。

ポリクロナール抗体とモノクロナール抗体の両者あるいは一方を利用した免疫学的検査は人間の医学上の診断には広く利用され、感度と特異性の面で著しい利用効果を示している。この免疫学的検査は、ここ10年で発達して簡便なものになり、最少限の訓練を受ければ誰でも行うことができる。医学での二重抗体 ELISA (酵素免疫測定法) を利用した検査法は、植物病原では先ずウイルスに適用され、細菌、マイコプラズマ様微生物、スピロプラズマ、そして糸状菌(カビ)の検出にも用いられるようになってきている。モノクロナール抗体はポリクロナール抗血清の持つ特異性や親和性が低いという問題を克服した。モノクロナール抗体は培養されたハイブリドーマによって生産されるが、これは理論的には永久的なものであり、常に標準化された均一な抗体の供給を可能にした。しかも、特異性が非常に高いために、高価で時間がかかろうとも、その利点ゆえに技術的な発展を追求するに値するものである。

ごく最近まで ELISA は試薬類の調製に数時間から一昼夜をも要したが、抗体の純化や酵素結合手順の改良によって感度がさらに向上し、総分析時間も短縮された。植物病理学で抗体を用いた分析は、通常 3~4 時間、早いもので 1 時間前後で完了する。簡便で感度が高く、正確で、しかも 30 分以内という分析は、医学界では現実のものとなっているが、この農業への適用も近い将来に期待されている。

る。これは免疫学的診断技術の利用において、実験室から現場での経営までの広範な適用、即ち、誰もが利用できるという点で求められている究極のものである。

免疫学的診断は農業上のかなりの実用点まで到達しているが、DNAプローブ技術は実験室における技術の確立がまさに始まったところである。DNAプローブの発達は植物病理学において、ここ5年間での分子生物学的研究の副産物であり、今後の急速な進歩が期待できるだろう。しかし、現在、この分析法は放射活性標識物質に依存しており、実用的には代替標識物質の発見が待たれるところである。

これらのいわゆる分子診断には、作物の種類、茎、根、葉など組織の差異、さらに環境条件をも考慮に入れることが必要である。これらは分析作業にまで影響を与えるため、何をどのように分析すべきかということは、個々の作物と病原体について慎重に計画せねばならない。例えば土壌病原体の検出は、土壌成分の多様性、生存能力、繁殖様式、密度、その他の要因によって複雑になっている。

今後数年間にどのような免疫学的診断と核酸プローブ技術の実用化が期待されるのだろうか？ 免疫学的診断は今日、生長点培養やさし木などの方法で増殖した植物体からのウイルスと細菌の検出に用いられ、検疫、無病株の維持といった面で日常的に行われている。これらは、いくらかの特殊な器具を備えた実験室内で行われるが、従来の指標植物への接種試験、生育試験、希釈平板法に比べて省力性で優れ、経済的であることから、今後多くの病原体への適用が期待される。

免疫学的診断が効果的に行われる舞台は植物病院 (diagnostic clinic) である。多くの大学の植物病理学部や公的研究機関では、今や免疫学的診断が常時利用できる。これらの施設では近々、核酸プローブも利用できそうだ。

免疫学的診断は発病前の植物組織や土壌、その他から病原体を検出するために進歩してきた。ELISAのような量的な分析法は、病原体の量をチェックでき、経済的採算点の決

定、治療勧告などを行うのに用いられる。今後は最少の器具しか携行できない野外で用いることが可能な試験法となるだろうし、はては台所や事務所、トラックの運転台でも利用できるようになり、益々利用が拡大されるだろう。

分子診断は植物病害に対処する補助器具として位置付けられるだろう。そして、病徴、病原学、病勢の進展と環境の影響などの知識を結集したものである。植物病害の早期診断、対処を行う上での重要なカギとなるものなのである。

(抄訳 奥 尚)

Biotechnology-based disease diagnostics

Sally A. Miller

Plant Disease 72 : 188 (1988)

文献情報

ピエゾバルブを装備したセルソーターによる健全プロトプラストの分取

セルソーターを用いて特定の植物プロトプラストを分取する試みはこれまでいくつかなされているが、従来のセルソーターが動物細胞を対象として開発されたこともあって、これを植物細胞に応用することは必ずしも容易ではない。この論文はこわれやすい植物プロトプラストを扱うために新しい分取原理を開発し、その有用性を検討したものである。

内容の紹介の前に従来のセルソーターの分取原理を簡単にふれておく必要がある。まず、プロトプラスト懸濁液と電解質を含む sheath 液 (鞘液) をそれぞれ用意し、圧力をかけて送り出す。これらはノルズ (開口部 直径100 μm) でプロトプラストが sheath 液の中央に位置するように調製され、液流となって流下する。分取時にはノズル全体が振動しており、振動数に応じた数の液滴が形成されることになる。プロトプラストを含む液流 (液滴を形成する前) にレーザーあるいは高圧水銀灯からの細いビームがあたり、細胞の持つさまざまな情報が集められ、解析あるいは分取のた

めの動作に用いられることになる。目的とするプロトプラストを含む液滴には+あるいは-の電荷がかけられ、高電圧の電場の中を通過するときいずれかの方向に偏向されて分取が完了する。

この論文で用いられているセルソーターは Agrogen Promotion 製の PCOSS 1 というタイプであり、レーザー光源の代わりに高圧水銀灯を用い、これに新しい分取装置をを組込んでいる。新しい分取機構は全体が密閉系であり、圧力をかけずに内部を減圧(840 mm bar)にして液流を形成させている。この状態で sheath 液の 2/3 は waste channel へ、そして 1/3 は分取 channel へと分けられる。分取すべき細胞が分取点に到達したときに piezo valve によって sorting channel へと導かれるという原理である。この装置は最大毎秒 1000 個のプロトプラストを処理する能力がある。従来のものと比較して、この装置はつぎの特徴がある。

- 1) 液流を形成するための圧力を必要としない。
- 2) ノズル自体が不用であり、さらに振動による液滴形成を必要としない。
- 3) 電荷で分取しないので sheath 液に電解質を入れる必要はない。
- 4) 密閉系であり、細胞を含む液滴が空気中を飛ばない。

この新しい分取装置が植物のプロトプラストに応用できるかをジャガイモの培養細胞由来のプロトプラストを用いて調べた。FDA

の蛍光染色を施した生きたプロトプラストと、熱処理で死滅させさらに Evans Blue で染色したものとを等量混合し、セルソーターで生きたプロトプラストのみ(分取率16%)を分取した。回収率は89.8%で、この分画は死滅したプロトプラストが0.5%程度混入しているのみで分取精度も十分高かった。また、分取後にどの程度のプロトプラストが損傷を受けたかを調査したところ、23%がFDAの蛍光を発しなかったり、Evans Blue で染色され、これからは分取操作そのものによる傷害と思われる。

植物のプロトプラストはセルソーターで分取するにはさまざまな問題点を含んだ材料であり、この論文で試みられるような植物細胞にも十分応用できるような新しい分取装置が必要とされている。これらの植物細胞の問題点を考慮すると、この装置で分取するだけで約23%が傷害を受けたとする知見にはやや疑問が残る。さらに、ここで試みられた分取自体は非常に簡単なものであり、この装置で、たとえば目的とする細胞の存在比がきわめて低い融合細胞などを効率よく分取することが可能かどうか、今後の進展が待たれる。

(抄訳 神代 隆)

Separation of intact and damaged plant-protoplasts by using a cell-sorter equipped with a two-channel piezo valve chamber
Bromova, M. and U.C. Knopf
Plant Science 52: 91-97 (1987)



外国特派員便り

スリランカ再訪の記

——20年を経過して——

前農林水産省熱帯農業研究センター
現農林水産省農業環境技術研究所
松本省平

1988年1月4日、新年早々の部長会議と記念撮影をあわだしく済ませて、エアランカ航空のコロンボ便の機中の人となった。ほぼ、20年振りのスリランカ再訪の旅である。正月早々の成田空港は案に相違して交通渋滞は全く無く、同行の高橋研一部長と時間を持て余す程であった。エアランカの機内では伝統のサリーも嫋嫋としたスリランカ美人のステュアデスのサービスを受けて快適な旅であった。空港にはスリランカ駐在の野口技官が早朝にも拘らず出迎えてコロンボ市内へ案内してくれた。空港の建物は新しく立派になり、市内のそこここには新築のホテルなどが数多く見られるが、行きかう人の群れや街全体の印象は全く20年前のそれと大きく変わった印象は得られなかった。

コロンボでは濱本大使にお目にかかり、JICAを含めた技術協力について意見を交換したが、とくに大使からは、スリランカ中央の1,800m余りの高地で日本の技術者がイチゴ栽培で苦労しているので訪ねて欲しいという要望があった。また、スリランカ農業省のWeragoda次官にもお目にかかり、現在進行中の遺伝資源に関する技術協力について種々と意見の交換を行った。コロンボ市内をざっと見物し、その日のうちにキャンディまで上ってしまった。道々、野口技官から説明をうけながら、印象に残ったことはまず第一に、登録番号からそれと判る30年はたったと思われる欧州車が立派に動き回っていることである。昔から古い車を良く使っていた国ではあるがよく持つものだと感心する一方で、当時からあれほど多かった日本車のOBにはほとんど出逢うことはなかった。次の朝、20年以前に3年間暮したキャンディの街を歩いて見

ても、一軒一軒の住人は変っているであろうが、それぞれの家々はほとんどものままで、雰囲気は全く変わらず、ただ20年の経過を示す様に家々の周りの樹木が大きく生長していた。とくに、今回泊ったQueen's Hotelは全く変わり映えせず、老齢のボーイが昔のままの姿でサービスをしてくれてタイムマシンに乗ったような気持ちになった。

その日農業局にグナワルデナ局長を訪ね、種々と意見を交換した。野口技官の水稲短期品種の栽培、小林・杉本技官の水稲の不稔の原因としてのカメムシの研究について感謝の意が示された後、gall-midgeの話となった。抵抗性であった品種に虫が大発生しているとの事である。このことは後でバダラゴード中央育種場を訪問した時にやや詳しく述べる。

次いで、中央農業研究所(CARI)をペラデニアを訪ねた。正門の前に広がっていた試験用水田が全く姿を消して、そこには日本の国際協力事業団の援助で遺伝資源の研究施設が建設中であり、第一期の工事が終わり、引続

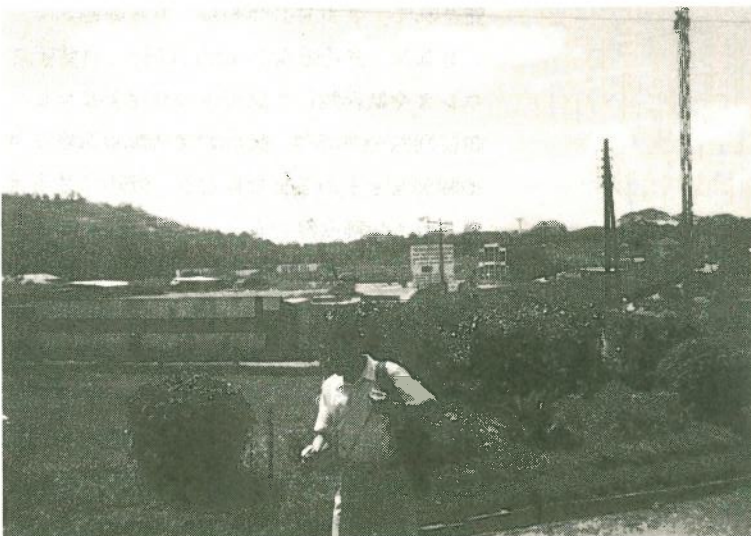


写真1 建設中の遺伝資源研究施設

いて第二期が工事中であった。残念ながら内部を見学することはできなかったが壮大な構想の大変に立派な施設ができあがるものと思われる。しかし、CARIそのものには余り活気が感じられず、組織培養の施設もイチゴなどを細々と手がけている程度のものであり、病理部の片隅に20年前に私が作った接種装置が残されているのを見ると、CARIそのものの性格がかなり変わり、今年予定されている日本の遺伝資源チームの派遣に伴って遺伝資源センターと変ぼうして行くのではないだろうか。

パタラゴダの中央水稻育種場は大変見事に管理され活気が感じられた。スリランカで

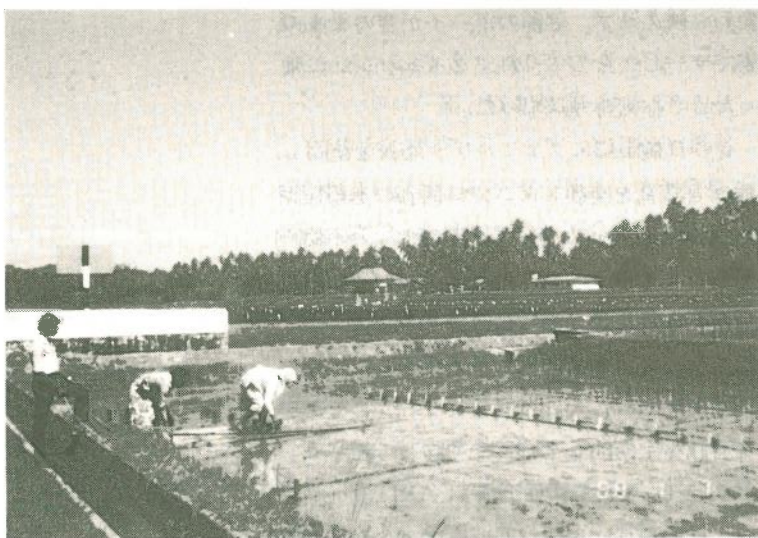


写真2 パタラゴダ中央稲育種場

は、このパタラゴダを中心に1970年代から独自で育成した高収量性の水稻品種が多数開発されて、3カ月品種から6カ月品種まで、いもち病、白葉枯病、gall midge、トビイロウンカや鉄過剰にも抵抗性の品種が普及しており1984~1985年の統計では全国の栽培面積の89.3%を占めるまでになり、米の自給も達成されていると聞いた。

さて、rice gall midgeであるが、和名をイネシントメタマバエといい、苗の生長点附近に食入して、白いチューブ状のゴールを形成する熱帯における稲の大害虫の一つである。スリランカでは、インドの水稻品種 Eswarakora に由来する ob 677/678 の抵抗性遺伝子を導入して抵抗性品種を育成して1979年には農家に放出されて、約3割の栽培面積を占め

gall midgeの被害が見られないほどになっていた。しかし、1985年に5年間の空白の後、最も普及している品種の一つである Bg400-1 にウエットゾーンで最初の発生が見られ、1987年にはドライゾーンを含め全国で、抵抗性を持つといわれる品種で大発生が見られるようになったということである。現在、スリランカでは、殺虫剤の使用、収穫後の稲株の除去などのキャンペーンを強力に進めると共に、新しい抵抗性遺伝子源の探索をはじめ研究を強力に推し進める予定で、日本にも協力を求めて来ている。筆者はこのパタラゴダでgall midgeの発生の実態を見学することが出来たが、さらに、ドライゾーンのマハベリ・プロジェクトの国際協力事業団の農場を訪問した際にも問題となっており、日本へ専門家の派遣を要請したの事であった。余談になるが帰国後、アフリカのブルキナファソから来信があり、同国でもgall midgeとstalk-eyed flyが大問題で研究者を派遣して欲しいということであった。

濱本大使のお勧めもあり、中央高地のヌワラエリアでイチゴ栽培をしている日本企業を訪ねた。約1,800mの標高を利用してビニールハウスでイチゴを栽培し、16時間をかけて中東のドバイ迄生果を空輸している。種々と相談を受けたが、山道を6時間ゆられて空港へ着く迄の輸送性の問題と、イチゴがコンテナに一杯にならない場合のパパイアなどの混載の可否であった。美味しい日本の品種を栽培して見たがぐちゃぐちゃにつぶれて了い商品にならず現在はカリフォルニアの品種を作っているが、味が満足できないので日本の品種はないかということであった。帰国後、早速野菜・茶試等に問合せてみたのだが、育種目標に輸送性をとりあげているが、まだ、満足出来るものはない、カリフォルニア大学のダグラス、パハロや民間のドリスコールなどが入って来ているというお話。包装資材や輸送法などの手段はスリランカでは難しいでしょう、パパイアの混載もうまくないということで、御期待に答え得る返事ができなくて大変残念でしたが、不便な外地でがんばっておられる日本の農業技術者の具体的な御質問

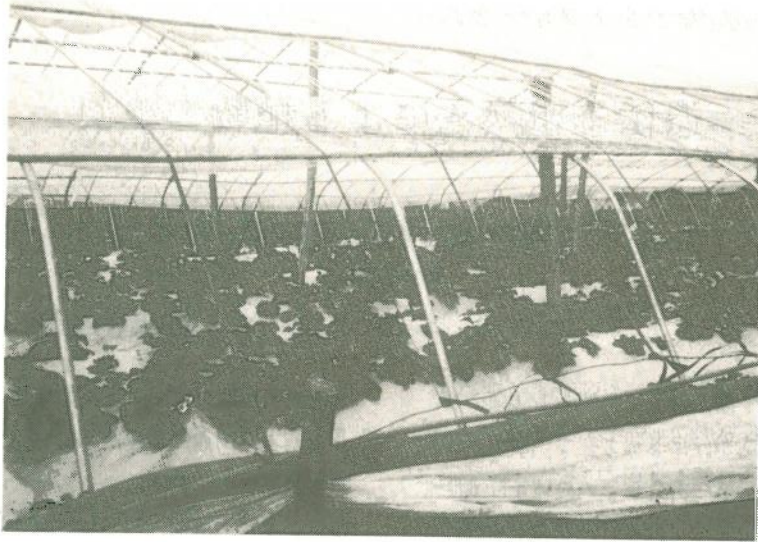


写真3 ヌワラエリアのイチゴ栽培

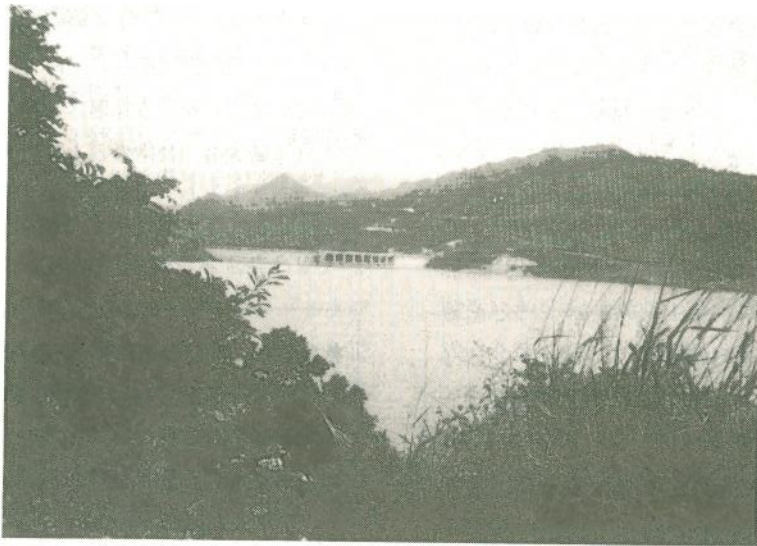


写真4 ヴィクトリアダム

にお答えしていかなければならない責任を痛感している。

キャンデイ郊外のデイガナ村に国際灌漑管理研究所 (IIMI) がある。1984年に発足した新しい研究所であるが、スリランカに本部を置き、パキスタン、ネパール、スーダンなどに研究員を置いて灌漑に関する研究を実施する国際研究機関である。日本からも、今年から国際協力事業団と熱帯農業研究センターから研究員が派遣され、共同研究が実施されることになっている。ここで IIMI のことをとりあげたのは、実は今回のスリランカ訪問で一番大きな感銘を受けたマハベリ河の灌漑計画の現場を見たため、この計画によってキ

ャンデイの部外にヴィクトリアダムを建設した。IIMIはこのダムの建設の人々の住居村を使ったものと聞いた。高地のヌワラエリアへの途中にも大きなダムができていた。一部分しか見ることはできなかったが、マハベリ河の流域には、いくつかのダムや各種の灌漑工事が行われ、大きな農地が造成されていた。

スリランカ到着後、20年前と余り変わらないと印象が強かったのですが、このマハベリ灌漑計画の現場を見て、スリランカは変わった、それを農業を土台とした国作りに向けて着実に前進していると感じました。また、10年後に再訪してその前進ぶりを見せて頂きたいと願っています。

BRAIN国際テクノフォーラム

遺伝子組換えによる植物の改良

Gene Transfer and Development of Plants

開催のご案内

細胞工学的手法、遺伝子工学的手法により、新しい植物細胞が作出されてきています。作出された細胞は、遺伝的に全くの異種雑種細胞であり、従来の育種法ではみられない不和合性の問題が生じています。また、導入された外来遺伝子が、形質転換体で、その遺伝情報を、適当な器官、適当な時期に発現するか、させるか、が今最も関心の高い重要な問題であります。

今回企画致しました BRAIN国際テクノフォーラムは「遺伝子組換えによる植物の改良」と題し、現在内外の第一線でご活躍の3名の方か

ら上記の問題に関する最新の技術情報の提供をいただき、国内の各専門分野のコメンテーターの参加を得て、新手法による植物改良のための研究の今後の展開について討論を行うものです。

このフォーラムは、基礎、応用にかかわらず、バイオテクノロジーによる植物の改良に関する理論的、実践的問題解決の一助となることをめざしています。かかる課題に実際に取り組んでおられる研究者、技術者および企画部門を担当されている方々が、多数ご参加されるようご案内申し上げます。

日時：1988年8月29日(火)

場所：つくば市 科学技術庁研究交流センター

講師および演題

1. Dr. E. W. Nester (Univ. Washington)
Current Status of Plant Biotechnology
2. Dr. R. N. Beachy (Washington Univ.)
Gene Expression in Transgenic Plants
3. 山谷 純氏 (キリンビール, 植物開発研究所) 遺伝子工学的手法によるウイルス抵抗性植物の育種

コメンテーター(予定)

内宮博文博士 (筑波大)
本吉総男博士 (農業生物資源研)
古川謙介博士 (微生物工業技術研)

座長(予定)

比留木忠治博士 (Alberta Univ.)

参加人数 申し込み先着150名限り、葉書または電話にて8月5日(金)までに下記へ

参加費 15,000円 (テキストおよび昼食代を含む)

(使用言語は日本語および英語で同時通訳が付きまします。)

申し込みおよび問合せ先

〒160 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

生研機構 東京事務所

企画部

松田, 伊澤, 貝沼

TEL 03-205-6565

FAX 03-205-6566

編集後記

BRAINテクノニュース8号をお届けします。前号では特別情報に紙面をとられたため文献情報を割愛せざるを得ませんでした。これまでどおり広い範囲の分野にわたって、内外の先進的研究を紹介したいと思っています。ふさわしい論文がありましたら、生研機構あるいは当情報協会まで是非御連絡下さいますようお願いいたします。(大畑)

ブレイン テクノニュース (第8号)

昭和63年7月15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

〒160 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 (社) 農林水産技術情報協会

〒103 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