

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

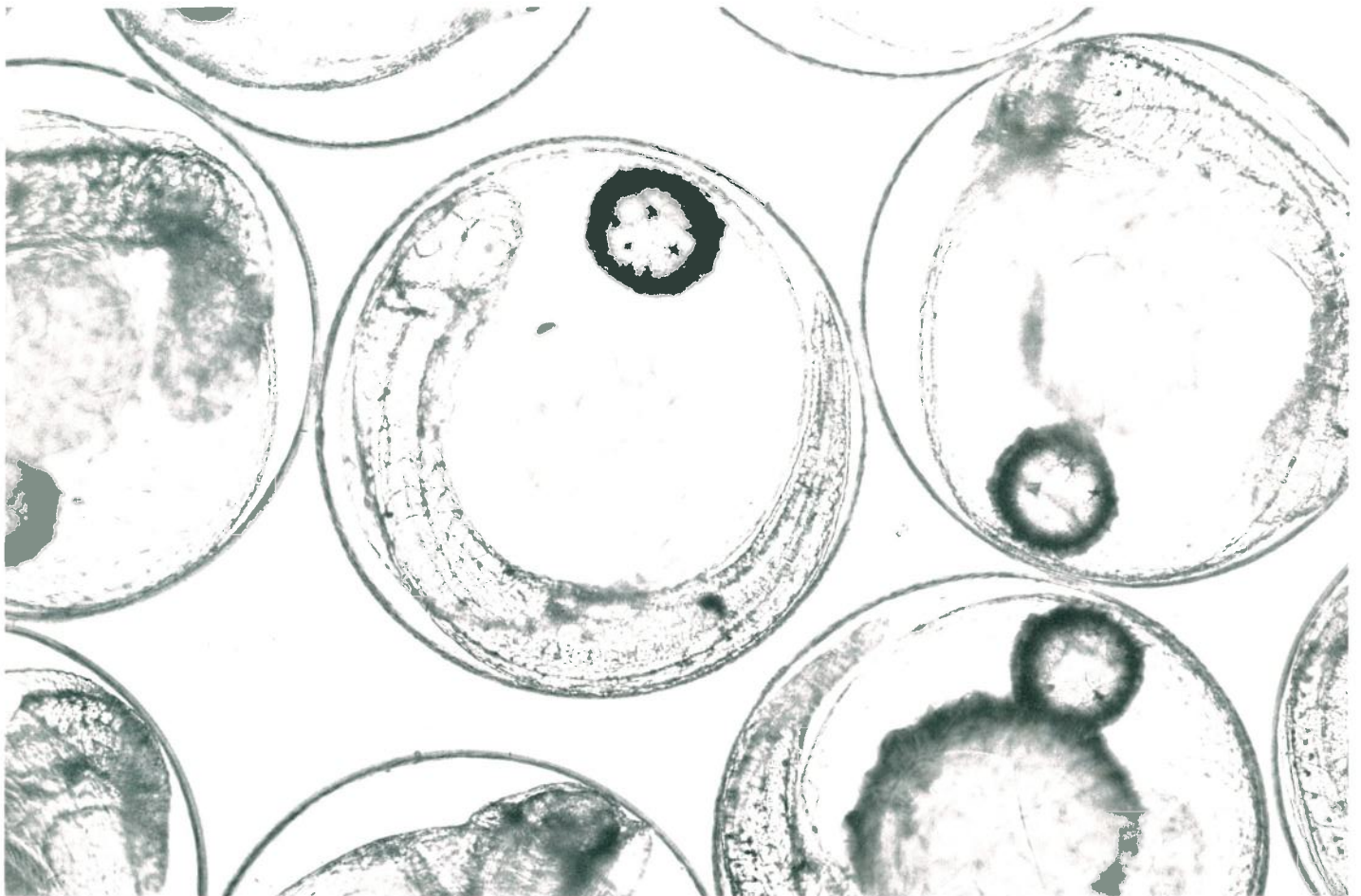
TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 12 号

MARCH 15, 1989



ふ化直前のカンパチの卵

(株)シーテックス提供

本号の紙面

| | |
|---|----|
| 国内情報 | 1 |
| F ₁ 間キメラの生育, 薬剤耐性菌対抗技術, 家畜感染症の免疫組織化学, オギ条斑ウイルスDNA, 小麦グルテニンサブユニット | |
| 文献情報 | 16 |
| 鳥の脳置換, トウモロコシの非細胞自律突然変異, CMV3Aたんぱく, セロリの形質転換体 | |
| 外国特派員便り | 21 |
| 国際稲研究所 | |
| 特別情報 | 24 |
| 細胞育種技術の進捗状況 | |

目 録

国内情報

- F₁(一代雑種)より早い発育を示したF₁間キメラ…………… 1
- 薬剤耐性菌対抗技術の新たな展開…………… 3
- 家畜感染症の免疫組織化学(酵素抗体法)…………… 7
- オギ条斑ウイルスDNAの構造と解析…………… 9
- 小麦グルテニンサブユニット構成の遺伝変異…………… 12

文献情報

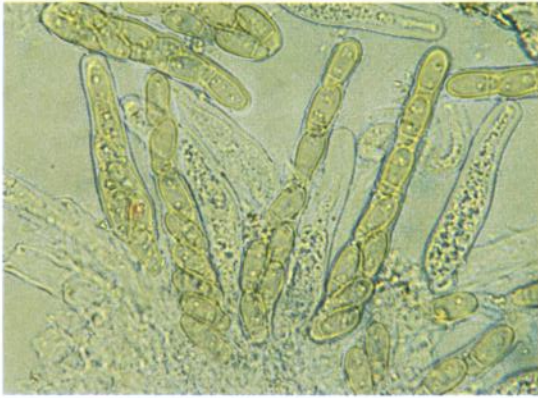
- 鳥の脳置換は新しい歌を作り出す…………… 16
- トウモロコシにおいて幼苗相を調節している非細胞自律突然変異…………… 17
- キュウリモザイクウイルス(CMV) 3 Aたんぱく質の細胞内分布について…………… 18
- アグロバクテリウムを用いたセロリ形質転換体の
作出とその細胞学的・遺伝的分析…………… 19

外国特派員便り

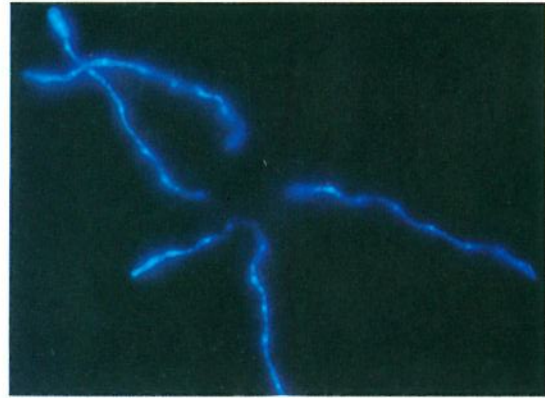
- 国際稲研究所(IRRI)における研究の現状…………… 21

特別情報

- 細胞育種技術の進捗状況 1988年度…………… 24

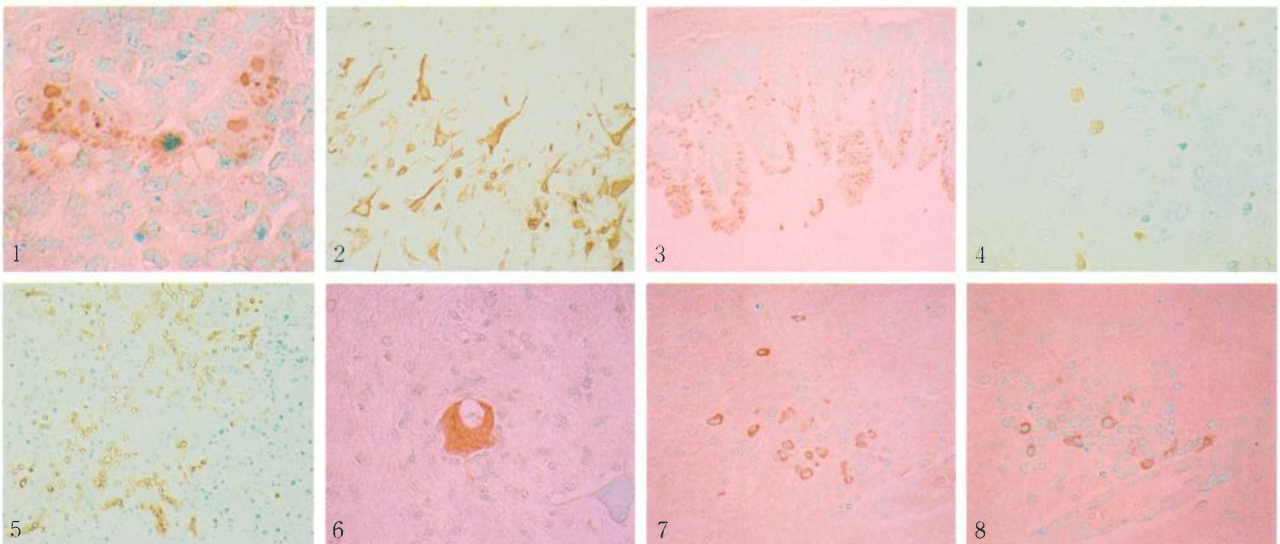


有性生殖によって形成された
ナシ黒星病菌の子のう胞子



薬剤耐性ナシ黒星病菌の分性胞子発芽管の伸長
(DAPIによる核染色)

家畜感染症の免疫組織化学(酵素抗体法)



1. PI-3 ウイルス感染牛の細気管支上皮, 免疫ペルオキシダーゼ染色 (IP染色)
2. ADV感染豚の中樞神経, IP染色
3. ロタウイルス感染豚の腸絨毛, IP染色
4. トキソプラズマ原虫感染豚の肝, IP染色 (播谷原図)
5. アスペルギルス感染牛の肺, IP染色 (播谷原図)
6. HEV感染豚の中樞神経, IP染色
7. HEV感染豚のグリア細胞集簇にみられたIgG含有細胞, IP染色
8. HEV感染豚のグリア細胞集簇にみられたIgM含有細胞, IP染色

国内情報

F₁ (一代雑種) より早い発育を示した F₁ 間キメラ

農林水産省 畜産試験場

大西 彰・三上仁志

はじめに

キメラは2個の受精胚を人為的に凝集することにより得られる、細胞レベルでの“雑種”動物である。雑種とは通常の場合、交配により遺伝子レベルで雑種になることをいう。雑種にヘテロシス（雑種強勢）が発現することはよく知られ、家畜生産においても幅広く利用されている。我々は細胞レベルの“雑種”でもヘテロシスと同様な現象が発現するかどうかに関心をもって研究を進めてきた。

本誌創刊号では、2個の異なる近交系マウス受精胚を凝集して作ったキメラマウスの繁殖能力と発育能力について述べたり²⁾。すなわち、これらのキメラマウスは平均してF₁に近い高い能力を示すことを明らかにした。キメラは発生途上で2種類の細胞の混合割合が変化するため、成体では各個体によりキメラの程度が異ってくる。そこで次に、キメラの能力とキメラの程度との関連性について調べたところ、キメラの能力はキメラの程度の高い個体でもっとも高く、キメラの程度が低くなるに伴い能力も低下することがわかった。これらの結果から、キメラ動物においても通常の雑種と同様にヘテロシスが発現し、細胞のキメラの程度がこの発現の強弱に関与することが明らかになった。我々は通常のヘテロシスと区別して、これをキメラ性ヘテロシスと呼んでいる。

家畜においては、F₁利用とともに3元、4元交雑、もどし交雑など種々の交雑利用がなされているが、いずれの方法を用いてもヘテロシス効果としてはF₁を上まわること

はできない。近交系間キメラでキメラの程度の高い個体であっても、その能力がF₁と同程度であっては産業上の利用価値はほとんどない。しかし、もしも何らかの方法によりF₁を超える能力をキメラに与えることができれば、キメラの新たな利用価値が生じるであろう。そこで、A、B、C、Dの4種類の近交系からAB F₁胚とCD F₁胚を得て、これらを凝集してF₁間キメラを作製してみた。F₁間キメラではF₁のもつヘテロシスにキメラ性ヘテロシスが上乗せされ、F₁以上の能力が発現するのではないだろうか。今回は発育能力について検討した。

1. 試験に用いたキメラマウス

キメラには、BC3 F₁胚(C57BL/6♀×C3H/He♂)とCD F₁胚(BALB/c♀×DBA/2♂)を用いた。8細胞期のF₁胚を凝集して54匹のICRの子宮に移植したところ、212匹の産子が得られた。これらの産子は全てがキメラではないため、キメラかどうかの判定が必要となる。キメラの判定には毛色や酵素などの遺伝的マーカーが用いられる。毛色はBC3 F₁が野生色でCD F₁がシナモン色であるため、毛色のみからキメラの判定を行うのは難しい。そこで、酵素マーカーであるGPI (glucose phosphate isomerase) アイソザイム分析を合わせて行った。GPIはほとんど全ての臓器に存在し、電気泳動により容易に検出できるため、キメラのマーカーとしてよく用いられる。GPIはCD F₁がA型でBC3 F₁がB型であり、キメラでは両型が発現する。毛色および眼静脈血のGPI型より得られた212匹の産子のうちの150匹が

キメラであった。キメラは外生殖器の形態から101匹が雄で49匹が雌であったが、内生殖器の所見から雄の5匹と雌の1匹は雌雄同体であった。さらに11匹の雄の精巣は明らかに萎縮し、正常の1/3以下の重量しかなかった。これらの異常個体は発育のデータから除いた。前回の試験と同様に明らかに性比が雄に多く偏っているが、これは雄の胚と雌の胚が凝集して性キメラになった場合、雄に発生するからである。キメラでなかった個体では性比の偏りはなかった。

2. キメラの体重

体重は3週齢（離乳時）から8週齢まで各週齢ごとに測定した。コントロールとしてBC3F₁とCDF₁を用いたが、離乳までの母体効果をキメラと同様にするため、コントロールは出生当日に4匹づつをICRの里子とした。

表1はキメラとコントロールの体重を示した。キメラ雄の体重はコントロールのF₁平均よりも4.6~10.5%大きく、全期間を通してCDF₁よりも大きかった。また6週齢を除いた4週齢以降はBC3F₁よりも大きかった。キメラ雌の体重はF₁平均よりも1.9~5.4%大きく、5週齢を除いた4週齢以降はCDF₁よりも大きかった。しかしBC3F₁とは差がなかった。

3. 各臓器のキメラの程度

キメラは各個体によりキメラの程度が異なるため、12種類の臓器についてGPIを検出してキメラの程度を調べた。キメラの程度は、GPIのA型およびB型バンドの濃度比をデンストメーターにより求めて推定した。用いた臓器は肝臓、腎臓、心臓、肺、胃、腸、脳、脾臓、顎下腺、精巣または卵巣、精嚢腺または子宮および赤血球である。臓器別にみると、肝臓、脾臓、脳を除いた臓器ではいずれもCDF₁細胞の割合が55~75%で、BC3F₁細胞の割合よりも多くなる傾向がみられた。この理由ははっきりとしないが、これらの臓器では発生段階でCDF₁細胞がBC3F₁細胞より早く分化する傾向があるのではないかとと思われる。12種類の臓器全てを平均した場合のCDF₁細胞の割合は、キメラ雄で58.1%、キメラ雌で62.1%であった。

図1はキメラの体重とBC3F₁細胞の割合（全臓器平均）との関係を示した。この図では、両者の細胞が均等に混在し、キメラの程度がもっとも高くなった場合にBC3F₁細胞の割合が50%となり、まったくキメラでない場合に0%となる。図から明らかなように、キメラの程度の高い個体の体重は大きく、キメラの程度が低くなるに伴い体重が直線的に低下する傾向がみられた。

4. 体重とキメラの程度との関連性

これらの結果より、遺伝的に異なるF₁胚間でキメラを作製した場合、キメラの程度の高い個体ではF₁を上まわる発育が期待できることがわかった。前述のように、自然交配ではどのような交雑方法をとってもF₁を上まわるヘテロシスは得られない。今回、遺伝的に異なるF₁胚間でキメラにすることにより、いくらかでもF₁の値を上まわったことは、新しい家畜生産の手段としてキメラが利用できる可能性があることを示している。しかしここで問題となるのは、いかにしてキメラの程度の高い個体を作製するかという点である。残念ながらキメラの程度をコントロールする技術は今のところはない。材料として用いる胚間の遺伝的相互作用を検討するとともに、成体への分化の決定した細胞（内部細胞塊）

表1 キメラとコントロールの体重

| | 数 | 体 重 (g) | | | | | | |
|---|-------------------|---------|------|------|------|------|------|------|
| | | 3週齢 | 4週齢 | 5週齢 | 6週齢 | 7週齢 | 8週齢 | |
| 雄 | キメラ | 85 | 15.9 | 24.4 | 28.1 | 30.5 | 32.5 | 34.3 |
| | BC3F ₁ | 30 | 15.4 | 22.9 | 27.0 | 29.7 | 31.3 | 32.9 |
| | CDF ₁ | 29 | 13.8 | 21.3 | 26.5 | 28.7 | 30.4 | 32.3 |
| | ヘテロシス(%) | | 9.3 | 10.5 | 5.0 | 4.6 | 5.2 | 5.2 |
| 雌 | キメラ | 47 | 14.7 | 19.9 | 23.0 | 24.3 | 25.7 | 26.9 |
| | BC3F ₁ | 30 | 14.9 | 19.4 | 22.7 | 23.8 | 24.9 | 26.4 |
| | CDF ₁ | 30 | 14.0 | 18.8 | 22.4 | 23.0 | 23.8 | 24.7 |
| | ヘテロシス(%) | | 1.9 | 4.3 | 2.3 | 3.9 | 5.4 | 5.4 |

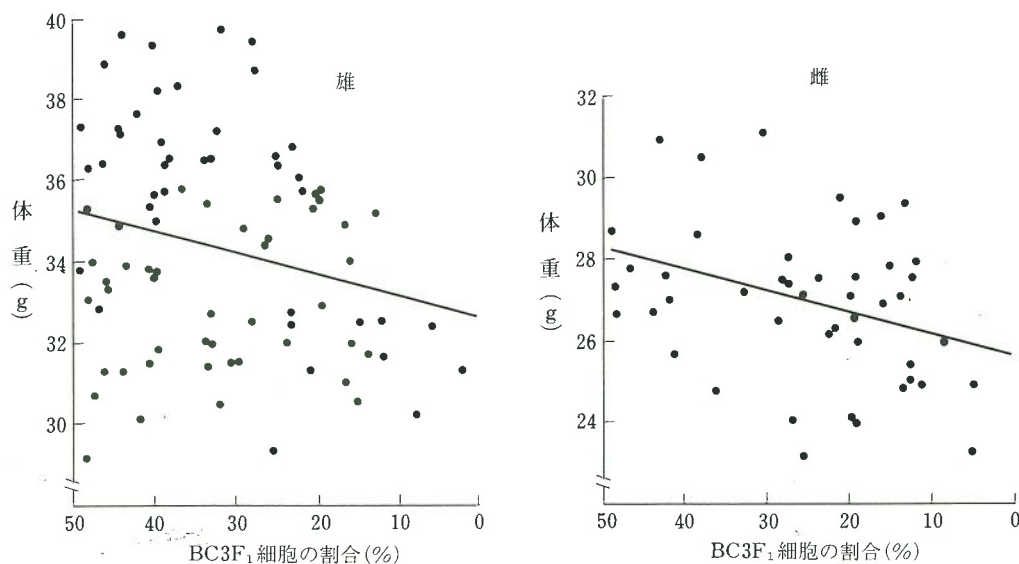


図1 12種類の臓器のGPI分析から推定したキメラの程度と体重との関係

同志をキメラにする注入法などの種々の作製方法についても検討する必要がある。

おわりに

キメラ性ヘテロシスはどのように発現するのだろうか。栄養雑種強勢としてキメラ性ヘテロシスの可能性を最初に提示した McLaren は二つの概念を述べている。一つは、細胞のヘテロ状態により生じる生化学的融通性の拡大である。例えば、キメラではそれぞれの対立遺伝子に由来する2種類の酵素が1個体内で機能することができる。2種類の酵素が異った生理的環境下でそれぞれ有効に働

くとしたら、細胞が適応できる条件の範囲が広がるであろう。もう一つは、細胞の代謝的欠損が正常細胞からの遺伝子産物により修正されるという代謝的補完性の概念である。このような補完的機能は細胞培養系で示されている。

文 献

- 1) Mikami, H. and A. Onishi (1985) *Genet. Res.* 46 : 85-94
- 2) Onishi, A. and H. Mikami (1987) *Jpn. J. Zootech. Sci.* 58 : 259-265
- 3) McLaren, A. (1978) Cambridge Univ. Press. 松永丈志訳「哺乳類の遺伝子発生学—胎児発生の実験的操作」岩波書店 (1980)

国内情報

薬剤耐性菌対抗技術の新たな展開

農林水産省 果樹試験場
石井英夫

生物を取巻く環境が変化するとき、これに対応して生物集団も多彩な変化を遂げる。1970年代の初頭より各国で見られるようになった植物病原菌の農業用薬剤に対する耐性は、実用的には薬剤による病害防除効果の低下に

よって農業生産を不安定にし、また一方では、有害微生物が人為的圧力に抗して種の保存を図ろうとする適応、小進化の過程を我々が垣間見る機会をも提供している。

これまでに耐性菌の出現をみた薬剤の多く

は、菌の細胞において特定の部位のみをターゲットとする特異作用点阻害剤であり、逆に多作用点阻害剤に対する耐性菌の問題はまれである。ここでは、糸状菌（かび）の微小管たんぱく、チューブリンをその作用点とするベンゾイミダゾール系薬剤を取り上げ、耐性機構の解明とそれに基づく耐性菌対抗技術の開発の現状、更にはその将来展望について述べてみたい。

チオファネートメチル(商品名、トップジンM、日本曹達株)やベノミル(同、ベンレート、デュポン社)に代表されるベンゾイミダゾール系薬剤は、その広い抗菌スペクトルと高い病害防除活性あるいはその浸透移行性ゆえに各国で広く用いられてきた。しかし、使用開始数年を経ずして各種の病害に対する効力の低下が見られるに至り、しかもその原因を耐性菌の出現に帰する報告が相次いだ。このような場合、問題となる薬剤に見切りをつけ、新たな薬剤に活路が見出せれば問題はないが、環境化学物質の安全性に対する社会的関心が高い昨今、安全性と病害防除効果を十分に兼ね備えた新薬の開発は容易ではない。事実、最近各国で開発される農薬用殺菌剤の多くがエルゴステロール生合成阻害剤(E B I剤)に片寄る傾向が目立つことなどは、全く新しいグループの薬剤を実用化することがいかに困難であるかを示す証左と言えよう。

1. 耐性の遺伝的背景と環境適応度

植物病原菌のうち、実験室内での交雑法が確立されているものは必ずしも多くはないが、それでも幾つかの菌でベンゾイミダゾール耐性の遺伝やその様式が調べられている。著者の供試材料の一つであるナシ黒星病菌では、何かデータを得るまでに1年近くは要するものの、有性生殖を培地上で再現させて子のう胞子と呼ばれる後代を形成させることが可能である。これまでの交雑結果から、ベンゾイミダゾール耐性は恐らく核支配であり、これに関わる遺伝子座も1個と推定されている。また、耐性のレベルも強耐性、中等度耐性、弱耐性と菌株によって異なるが、このような違いは同じ座位を占める複対立遺伝子の一つによって発現するものと考えられる¹⁾(図1)。

さて、耐性菌出現の事例が今日ほど一般的でなかった当初は、菌が仮に耐性を獲得したとしても、そのような突然変異体は農業生態系における fitness, すなわち環境適応度は通常の薬剤感受性菌よりも劣るものと考えられていた。もしそうであれば、特定の薬剤による選択圧によって菌の集団中で優占化した耐性菌といえども、その後選択圧が除去されれば、速やかにその占有率を低下させる筈である。しかし予想に反して、ベンゾイミダゾール系薬剤の使用を中止しても耐性菌の割合にさほど変化が見られないことが多く、したがって耐性菌も十分環境に適応できることが明らかになった。

2. 耐性菌対策の現状

耐性菌の優占化による被害の発生を未然に防止するために、あるいは事後の対策として最も一般的なのは、作用機構の異なる薬剤との混合使用や交互使用である。これは経験的なほ場観察や各種のシミュレーションデータに基づくもので、耐性菌対策として一定の役割を果たしている。しかし、これとて絶対的なものではなく、ある時間経過の後に耐性菌

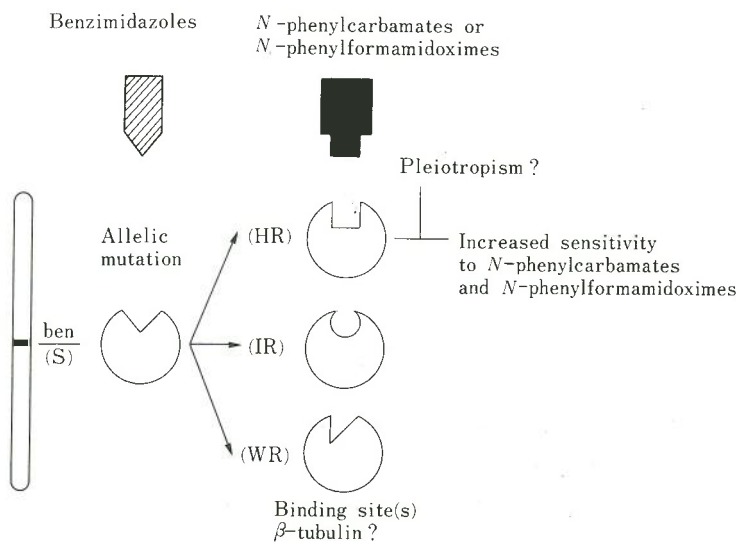


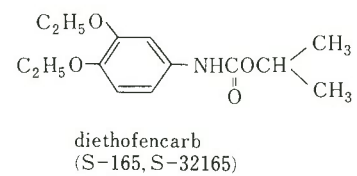
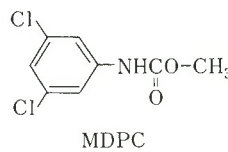
図1 ナシ黒星病菌のベンゾイミダゾール耐性の遺伝生化学

が優占化してしまう例も少なくない。それではもう少し合理的な耐性菌対抗技術はないものだろうか。1979年、フランスのLerouxらは興味ある論文を発表、その中でベンゾイミダゾール耐性菌のあるものはパーバンなどのN-フェニルカーバメート系除草剤に特異的に高い感受性を示すと述べた²⁾。これをきっかけとして、我が国の住友化学㈱では同じN-フェニルカーバメート系化合物の中からMDPCやジエトフェンカルブを、また日本曹達㈱もN-フェニルホルムアミドキシム系化合物のDCPFやCDPFを見出し、これらがいずれもベンゾイミダゾール耐性菌に特異的に高い抗菌活性を示すことを相次いで明らかにした(図2)^{3,4)}。このうち、ジエトフェンカルブは既にフランスで殺菌剤としての仮登録を取得、ベンゾイミダゾール系薬剤カルベンダジム(前述のチオファネートメチルやベノミルの分解物で抗菌本体とされる)との混合剤として、ブドウ灰色かび病の防除に供されている。耐性菌問題を考えるとき、これは画期的なことであり、関連企業の研究開発能力に対しても一定の国際的評価が定まりつつある。しかしながら、有害微生物の環境に対する適応機構の多様性には実に驚かされるものがある。というのは、ベンゾイミダゾール耐性菌の中に既にN-フェニルカーバメート系あるいはN-フェニルホルムアミドキシム系化合物に非感受性(耐性)の菌が見出されるのである。このような double resistance を示すものははじめ著者らのナシ黒星病菌で、その後海外でもテンサイ褐斑病菌やムギ類眼紋病菌に見出されている。

3. 耐性菌対抗技術の新たな開発を 目指して

先のN-フェニルカーバメート系化合物がなぜベンゾイミダゾール耐性菌に効力を発揮するのか、その生化学的裏付けは得られていない。しかし、同じ系統の除草剤が植物細胞の分裂を阻害することは以前から知られ、これとベンゾイミダゾール系薬剤の菌に対する作用、すなわち有糸分裂を阻害するという

N-phenylcarbamates



N-phenylformamidoximes

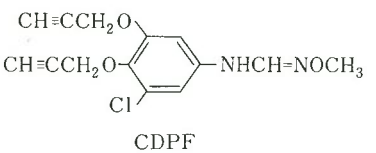
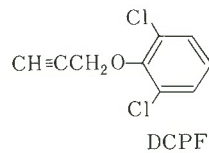


図2 ベンゾイミダゾール耐性菌に特異的に抗菌活性を示す化合物

性質の共通点に着目したのがそもそもの起こりであったという。そこで著者はオランダのDavidseと共同で、ナシ黒星病菌のベンゾイミダゾール耐性の機構を、薬剤と受容体たんぱくとの親和性の観点から調べてみた。その結果、耐性菌では感受性菌に比べて培養菌体から抽出したたんぱくの¹⁴C-カルベンダジムに対する結合活性が低下していることが見出され⁵⁾、同様のことは灰色かび病菌やイネばか苗病菌(ジベレリンの産生で知られる)でも確かめられた。著者はさらに、同じ結合実験を今度は¹⁴C-DCPFで行ったところ、DCPFに特異的に高い感受性を示すベンゾイミダゾール強耐性菌のたんぱくはベンゾイミダゾール感受性菌よりもDCPFに対する結合活性も高かった。以上のことを模式化したものが図1である。すなわち、本来ベンゾイミダゾール感受性をコードすべき遺伝子に変異することによって、遺伝子翻訳産物(β-チューブリンか?)の分子中のベンゾイミダゾール系薬剤に対する結合部位に何らかの変化が生じ、その結果薬剤との親和性が低下して耐性化に至る。一方、強耐性菌の変異した結合部位にたまたまDCPFなどがうまくフィットする構造を持つために、これらの化合物の活性が発現するというストーリーである。この点を証明するためには今後、薬剤受容たんぱくの精製が不可欠である。また、ベンゾイミダゾール強耐性とN-フェニルカーバメート系あるいはN-フェニルホルムアミドキシム系の化合物に対する感受性の増大が同一遺伝子の多面発現によるものかどうか、つま

り真の意味での負相関交差耐性であるかどうかについて現在検討中である。試みに、ベンゾイミダゾール強耐性菌(MDPC感受性)を同感受性菌(MDPC非感受性)と交雑してみると、親株と同じ表現型を持つ後代のほかに、ベンゾイミダゾール強耐性でMDPCにも非感受性の菌が得られた。このことから、ベンゾイミダゾール強耐性とMDPC感受性とは互いに連鎖関係にありながら異なる座位を占める遺伝子によって発現する可能性もある⁶⁾。

ところで、*N*-フェニルカーバメート系、*N*-フェニルホルムアミドキシム系の両系統の化合物はいずれもベンゾイミダゾール耐性菌に普遍的に効く訳ではない。それでは、ベンゾイミダゾール系薬剤のような細胞分裂阻害剤の中に更に面白いものはないものだろうか。実はある科学雑誌で見かけた記事が縁となって最近興味ある化合物にめぐり会った。土壌病原菌 *Rhizopus chinensis* の代謝毒素として単離、構造決定されたリゾキシンである^{7,8)}。この化合物は、ブタの脳から精製したチューブリンの重合を阻害する、いわゆる微小管阻害剤の一種である⁹⁾。そこでこの性質に注目し、各種の植物病原菌に対する抗菌活性を室内で検定してみると、ナシ黒星病菌や灰色かび病菌、テンサイ褐斑病菌等々に対して極めて高い活性を示し、0.01 $\mu\text{g/ml}$ 以下で菌糸の生育を50%以上も阻害した(表1)¹⁰⁾。しかもベンゾイミダゾール耐性菌、感受性菌の両者に等しく効果が認められたばかりか、ナシ黒星病菌のように、ベンゾイミダゾール系薬剤の抗菌スペクトルに含まれない種に対しても活性を示した。このことは、リゾキシ

ンが仮に菌のチューブリンに結合して効力を現わすとすると、その結合部位はベンゾイミダゾール系薬剤のそれとは異なることを物語り、新たなターゲットとして注目される。ちなみに、ナシ黒星病菌の分生胞子にリゾキシンを処理すると、カルベンダジムを感受性菌に処理した場合と同様に核の分裂が異常を呈する様子がDNAの蛍光色素DAPIを用いた実験で観察された。リゾキシンについては現在も、東大応微研や農環研との共同研究を継続中である。同化合物はまた制ガン剤としての活性も期待されるようで、果たして将来殺菌剤として実用化できるか否かは不明であるが、スクリーニングいかにによってはまだこのような化合物に出くわすチャンスが残されているという点で意義深い。

ベンゾイミダゾール耐性を発現する遺伝子の単離と構造解析が既に酵母等で行われているが、近い将来植物病原菌でも同様の研究が進むことと思われる。また、これと並行して生化学や物理化学の立場からの研究が実施されるならば、耐性菌の薬剤受容たんぱくにフィットする化合物を理論的に合成することがやがて実現するかも知れない。

文 献

- 1) Ishii, H. et al. (1984) *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* 49/2 a : 163-172
- 2) Leroux, P. and M. C. R. Gredt (1979) *Acad. Sci. Paris, Ser. D* 289 : 691-693
- 3) Kato, T. et al. (1984) *J. Pestic. Sci.* 9 : 489-495
- 4) Nakata, A. et al. (1987) *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 53 : 659-662
- 5) Ishii, H. and L. C. Davidse (1986) *Proc. 1986 Br. Crop Prot. Conf. Pests and Diseases* 2 : 567-573
- 6) Ishii, H. and M. van Raak (1988) *Phytopathology* 78 : 695-698
- 7) 環境生物部微生物管理科寄生菌動態研 (1985) *農環研年報* 3 : 50-53
- 8) Iwasaki, S. et al. (1984) *J. Antibiotics* 37 : 354-362
- 9) Takahashi, M. et al. (1987) *J. Antibiotics* 40 : 66-72
- 10) 石井英夫ほか(1989) *日植病報* 55 : 印刷予定

表1 灰色かび病菌のカルベンダジムおよびリゾキシンに対する感受性

| isolate | EC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) of: | |
|---------------------------|---|----------|
| | carbendazim | rhizoxin |
| 4519-1 (HR) ^{a)} | 65659.80 | < 0.01 |
| 850447 (MR) | 75.37 | < 0.01 |
| 4319-1 (S) | < 0.19 | < 0.01 |

^{a)} Abbreviations: HR; Highly carbendazim-resistant, MR; Moderately resistant, S; Sensitive

国内情報

家畜感染症の免疫組織化学(酵素抗体法)

農林水産省 家畜衛生試験場 鶏病支場

成田 實

はじめに

Coons によって蛍光抗体法が考案されて以来、免疫組織化学の応用は病原微生物の同定にとどまらず、免疫グロブリンやホルモンなどの細胞・組織内局在証明にまで及んでいる。その後、Nakane らによって酵素抗体法が開発され、通常顕微鏡で組織・細胞の構造を確認しながら、明視野の下で抗原物質を観察することを可能にした。

近年、数多くの抗体のみならず、免疫組織化学染色に必要なものがすべて整ったキットが市販されるようになり、技術応用の簡易化が促進された。こうして、免疫組織化学は、病理組織診断での有効な一手段として定着しつつある。以下、病理検体における免疫組織化学について述べる。

1. 感染病理における免疫組織化学の必要性

感染症の病原診断は、培養や免疫血清学的あるいは病理組織学的検索によって行れるが、病巣内に存在する病原体を直接検出する病理診断がもっとも確実な方法である。しかしながら、その存在が形態学的に確認できるものは、特徴のある真菌類、原虫、寄生虫、細胞質内あるいは核内封入体を形成するウイルス類ぐらいである。病巣内の細菌類の種属の決定や封入体を形成しないウイルスの確認は不可能である。

このような場合、特異抗体を用いた蛍光抗体法が使用されてきた。しかし、蛍光抗体法は、次のような欠点を持っている。

- 1) 標本の保存が難しい
- 2) 観察による特異蛍光の消退が著しい
- 3) 病変性状の同時観察ができない

酵素抗体法は、蛍光抗体法におけるこれらの欠点を補う手段として開発されたものである。免疫染色によって検出できる抗原は、ウイルス、細菌、リケッチア、原虫などの病原体の他、組織・細胞成分、ホルモンなども可能となった(表1)。

表1 免疫染色によって検出される対象

| |
|---|
| 血清たんぱく |
| ホルモンと関連物質 |
| 酵素 |
| 組織・細胞および関連物質 |
| 病原体 |
| ウイルス：インフルエンザ、パラインフルエンザ、狂犬病、日本脳炎、ワクシニアオーエスキー病、血球凝集性脳脊髄炎、ロタ、アデノ、RS、ジステンパー、牛痘、牛伝染性鼻気管炎、ニューカッスルなど |
| クラミジア： |
| 細菌：ブドウ球菌、溶血性連鎖球菌、炭疽菌、リステリア菌、大腸菌、サルモネラ菌、ブルセラ菌など |
| 真菌：アスペルギルス、カンジダなど |
| 寄生虫：マラリア、トキソプラズマ、ピロプラズマなど |

2. 抗原を検出するための材料処理

1) 凍結組織

-80℃に冷やしたn-ヘキサン中で急速凍結する。切片作製後、ウイルスや細菌などを不活化する目的を兼ねてアセトンで固定する。直ちに染色しない場合は密封し、-20℃~-80℃で保存すれば、長期間抗原性は消失しない。

2) 組織の固定

一般的には緩衝ホルマリンを用いる(表2)。

表2 免疫染色用標本の固定液

| 抗原 固定液 | アルブミン | 免疫グロブリン | 補体成分 | ホルモン | ウイルス | 細菌 |
|------------|-------|---------|------|------|------|----|
| 10%緩衝ホルマリン | ○ | ◎ | ○ | ◎ | ○ | ○ |
| ブアン液 | ○ | ◎ | ○ | ◎ | ○ | ○ |
| PLP液 | ○ | ◎ | ○ | ◎ | ○ | ○ |
| グルタルアルデヒド | × | △ | × | △ | | |
| 1%オスミウム酸 | × | × | × | △ | | |
| 95%エタノール | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | ○ | ○ |
| 100%アセトン | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | ◎ | ○ |

注) ◎;好適, ○;可, △;条件により可, ×;不可

実験的に検討した成績では、緩衝ホルマリンで6か月間固定した材料からウイルス抗原が検出された。剖検の際、切り出した組織は10%緩衝ホルマリンで固定し、速やかにパラフィン包埋することが望まれる。パラフィン切片中のウイルス抗原は、20年以上経ても抗原検出が可能である。

3. アビジン-ビオチンペルオキシダーゼ複合体(ABC)免疫染色法の手順

われわれが現在行っている組織内病原診断

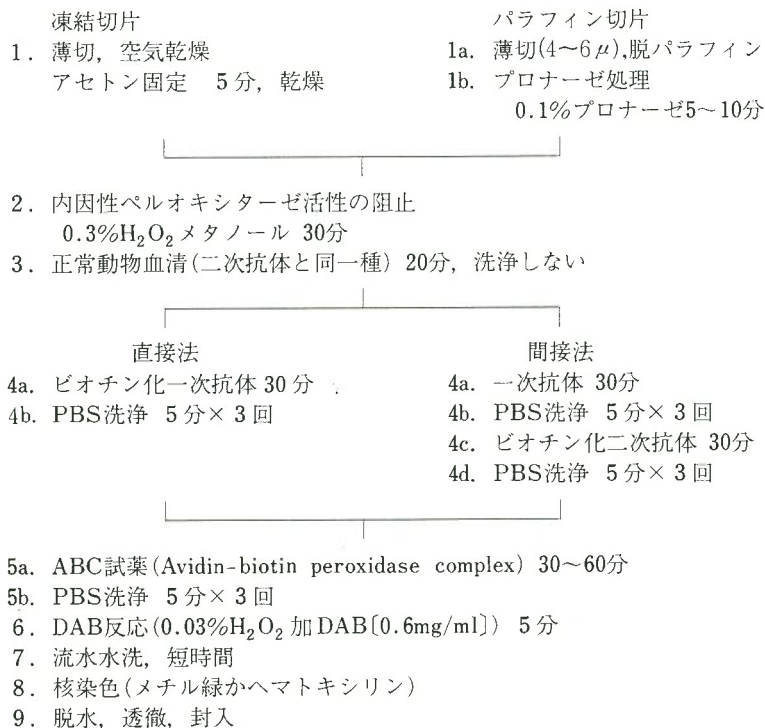


図1 直接および間接ABC法の手順

におけるABC法の手技を図1に示した。ABC法は免疫組織化学的手法として、今や広く一般化しており、染色技法は難しいものではない。トリプシンやプロナーゼ(0.1%)などのたんぱく分解酵素を用いて行う組織切片の前処理は、細胞膜に沈着した免疫グロブリンの検出やたんぱくによって被われた抗原の検出には必要である。染色結果を左右する最も重要な点は、使用する一次抗体の特異性である。使用血清のいかににより、陽性・陰性の判定結果を左右することもある。使用する血清たんぱく濃度が高い場合、非特異的吸着の原因となる。判定には、陽性コントロール、陰性コントロール、非感性的動物血清を用いた陰性コントロールを置き、その結果を比較する必要がある。

4. 応用例

適当な時期に採取された材料で、適切な方法で固定、包埋された組織であれば、たいいていの病原体を検出することが可能である。

口絵(1)はパラインフラエンザⅢ型(P I-3)ウイルスに感染した牛の肺で、細気管支上皮細胞の細胞質内封入体に一致してウイルス抗原が観察される。口絵(2)はオーエスキ病ウイルス(ADV)感染豚の脳で、神経細胞の核と細胞質にウイルス抗原が陽性を示している。口絵(3)はロタウイルスに感染した豚の小腸で、短縮した絨毛上皮細胞の細胞質にウイルス抗原が認められる。口絵(4)はトキソプラズマ(原虫)、口絵(5)はアスペルギルズ(真菌)の陽性反応である。口絵(6)~(8)は豚の血球凝集性脳脊髄炎ウイルス(HEV)感染豚の脳にみられた一連の反応である。(6)は神経食現象を示す神経細胞の細胞質にウイルス抗原が認められる。その後、変性した神経細胞はグリア細胞の集簇巣となり、その構成細胞には免疫グロブリン(IgG)(7)、IgM(8)を含有する細胞が多数含まれることが明らかとなった。病原微生物の侵入、感染細胞の壊死、免疫グロブリン含有細胞の浸潤と病巣修復につらなる関連が示された。詳細については、*J.Comp. Pathol.* に印刷中である。

おわりに

組織内における病原微生物の証明は、診断、同定に必要不可欠である。従来の組織化学染

色での検出には限度がある。免疫組織化学染色は、微生物以外に原虫、ホルモン、免疫グロブリンなどの証明も可能となり、再現性、感度、同定、手技に優れた方法として、今後ますます必要性が増すものと思われる。

国内情報

オギ条斑ウイルス DNA の構造と解析

日本石油株式会社 茶谷正明・水田美能
東京農業大学 池上正人

はじめに

オギ条斑ウイルスは、日本で発見された唯一のイネ科植物に感染するジェミニウイルス（粒子が双球状で、ゲノムが一本鎖 DNA であるという特徴をもつ）である。このウイルスは山下¹⁾によって千葉県で発見され、オギに感染して白色条斑状の病徴を示すが、血清学的に既知のジェミニウイルスと異なることからオギ条斑ウイルス (MiSV) と命名された。MiSV はイネ科のオギに感染するため、イネ科植物へ外来遺伝子を導入するベクターとして期待されており、その遺伝子の解析が望まれていた。

そこで、この MiSV の DNA をオギの感染葉から単離、精製し、その塩基配列を決定して解析を行った。さらに、MiSV と他のジェミニウイルスとの比較を行った。

1. 材料および方法

(1) MiSV に特異的な二本鎖 (ds) DNA の単離およびクローニング

MiSV に感染したオギの葉をリン酸緩衝液中で摩砕して細胞抽出液を得た。その抽出液をアルカリ・SDS で処理し、得られたウイルスに特異的な一本鎖 (ss) DNA および dsDNA を塩化セシウム臭化エチジウム平衡密度勾配

遠心にかけて、dsDNA を精製してクローニングに供した。この DNA は、制限酵素解析により *Hind* III を含む数種の酵素で一か所で切断されることが判明したため、大腸菌プラスミド pBR 322 に *Hind* III 切断部位でクローニングを行った。

(2) 塩基配列の決定および解析

(1) でクローニングした MiSV dsDNA を適当な制限酵素で切断し、シーケンス用ベクター (pUC 118 および pUC 119) にサブクローニングを行った。適当な大きさに断片化できない部分は exonuclease III によるデリベーションを行った。塩基配列の決定はダイデオキシ法により、アプライドバイオシステムズ社の DNA シーケンサーモデル 370A ならびに ³²P dCTP を用いて行った。また、DNA およびオープンリーディングフレーム (転写読枠: ORF) の相関関係の解析は日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社の解析プログラム DNA-SIS により行った。

2. 結果

電子顕微鏡観察により、モノマーおよびダイマーの環状 MiSV dsDNA が確認された (図 1)。また、中にはサブゲノミックな環状 DNA も観察された。

シーケンスにより MiSV dsDNA は 2672 塩基対から構成されていることが確認された。

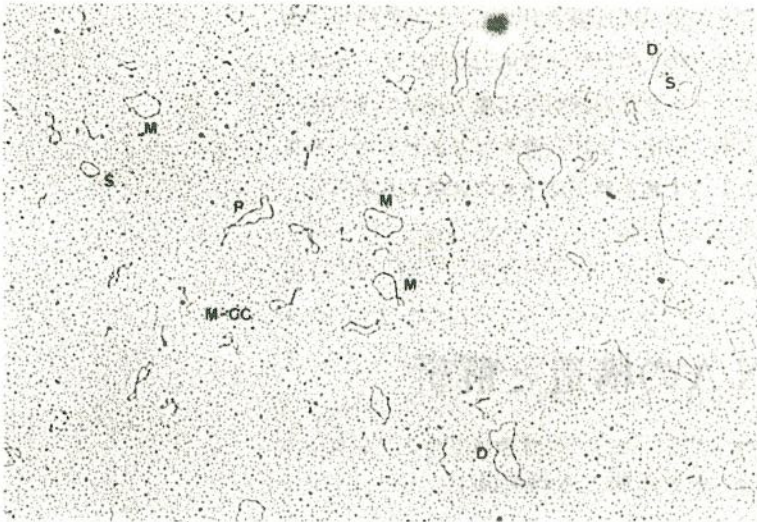


図1 MiSV dsDNAの電子顕微鏡写真

- M : MiSV dsDNA (monomer)
- M-CC : 同 (closed circular)
- D : 同 (dimer)
- S : 同 (subgenomic)
- P : pBR322 dsDNA (size marker)

また、クローンは少なくとも2種類存在し、クローンにより数個の塩基の置換が起こっていることが確認された。なお、塩基配列に基づくMiSV dsDNAの制限酵素地図を図2に示した。図中、円の内側の酵素は認識部位が1か所のもの、外側の酵素は2か所以上のものである。

塩基配列に基づきORFを探索したところ、分子量1万以上のたんぱくをコードできる大きさのORFが(+)鎖に2個、(-)鎖に1個確認された(図3実線矢印)。

塩基配列およびORFレベルでMiSVと他のジェミニウイルスの比較を行い、MiSVがMSV(トウモロコシ条斑ウイルス)²⁾、WDV(コムギ萎縮ウイルス)³⁾、DSV(ディジタリア条斑ウイルス)⁴⁾などの単子葉植物に感染するヨコバイ伝播型ジェミニウイルスと高い相関関係があることを確認した。さらに、開始メチオニンコドンが見られないものの、

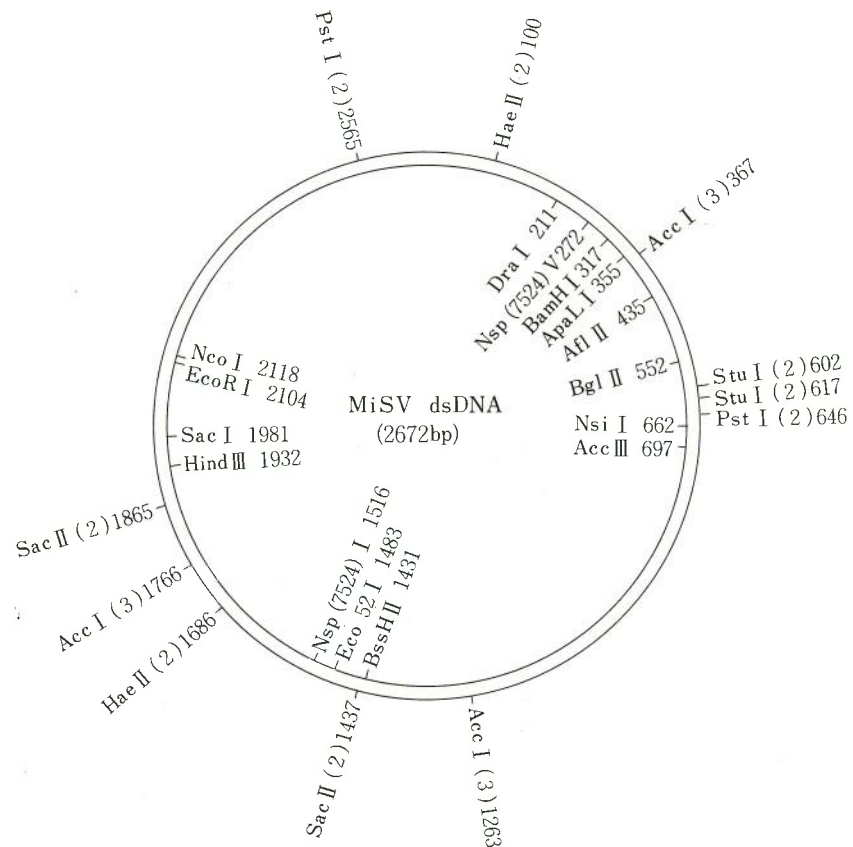


図2 MiSV dsDNAの制限酵素地図

酵素名のあとの数字は、ORF (R2)(図3参照)の開始コドン(ATG)の最初の塩基Aを1としたときの当該酵素の認識塩基配列の最初の塩基の位置を示し、カッコの中の数は認識部位の数を示す。

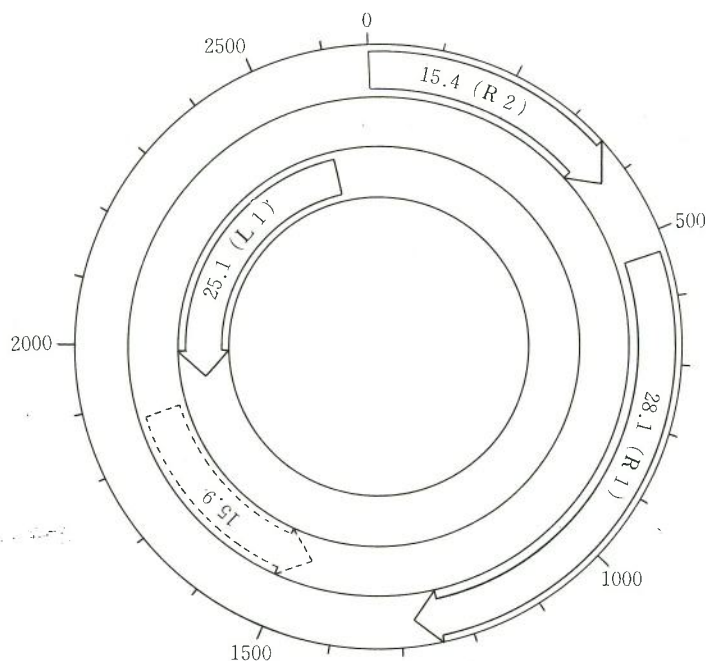


図3 塩基配列から推定されるMiSV ds DNAのたんぱくコード領域

時計方向の矢印が(+)鎖、反時計方向は(-)鎖を示す。

矢印の中の数字はコードされているたんぱく分子の分子量(kDa)を示す。

MSVのORF(L3)と非常に高い相関を示すORFが、(-)鎖のORF(L1)のすぐ下流に確認された(図3点線矢印)。この結果はWDV、DSVなどで報告されている結果に酷似している。

おわりに

日本で初めて発見されたイネ科植物に感染するジェミニウイルスであるオギ条斑ウイルスの塩基配列を決定し、それがヨコバイによってイネ科植物に感染する他のジェミニウイルスに高い相関性があることを見いだした。

既にMSV^{5,6)}、DSV⁷⁾などでは、ベクター化に向けて、アグロバクテリウムを用いた感染実験(アグロインフェクション)などの研究が進みつつある。

今後このMiSVについても、イネ科植物に外来遺伝子を導入するベクターとして開発が

進むことが期待される。

文 献

- 1) 山下修一・野中信行・難波成任・土居養二・興良 清(1985) 日植病報 51: 582-590
- 2) Mullineaux, P.M., J. Donson, B.A.M. Morris-Krsinich, M.I. Boulton and J.W. Davies (1984) *EMBO J.* 3(13): 3063-3068
- 3) MacDowell, S.W., H. Macdonald, W.D.O. Hamilton, R.H.A. Coutts and K.W. Buck (1985) *EMBO J.* 4(9): 2173-2180
- 4) Donson, J., G.P. Accotto, M.I. Boulton, P.M. Mullineaux and J.W. Davies (1987) *Virology* 161: 160-169
- 5) Grimsley, N.H., T. Hohn, J.W. Davies and B. Hohn (1987) *Nature* 325: 177-179
- 6) Grimsley, N.H., C. Ramos, T. Hohn and B. Hohn (1988) *Bio/ Tech.* 6: 185-189
- 7) Donson, J., H.V. Gunn, C.J. Woolston, M.S. Pinner, M.I. Boulton, P.M. Mullineaux and J.W. Davies (1988) *Virology* 162: 248-250

国内情報

小麦グルテニンサブユニット構成の遺伝変異

農林水産省 農業研究センター

佐々木 宏^{*)}・中村 洋

はじめに

小麦粉中には、通常7～13%程度のたんぱく質が含まれ、その含有量と性質によって小麦粉製品の用途別（パン、めん、菓子等）適性が左右される。小麦粉に水を加えて混捏すると生地（ドウ）が形成され、この生地からでん粉を洗い出して残った物質がグルテンと呼ばれ、グルテニンおよびグリアジンを主成分とし、小麦粉に特有の粘弾性をもたらす。グルテニンは各種のアミノ酸が重合した小麦粉たんぱく質の中で最も分子量が大きいもので、これを2-メルカプトエタノールでS-S結合を切断して、線状のポリペプチドとしたものに十分量のSDSを結合させて、ポリアクリルアミドゲル中で電気泳動を行うとサブユニットは分子量によって一定の易動度を示す。分子量の大きいサブユニットは易動度が小さく、低分子量のそれは易動度の大きい位置に集積してそれぞれのバンドを形成する。小麦のグルテニンやグリアジン等の各種たんぱく質はそれぞれ多数のサブユニットより構成され、そのパターンは品種によって異なっている。

筆者らは、山下作二部長の奨めにより生物研・分子育種部平野久氏の指導を受けて、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法（SDS-PAGE）によるグルテニンサブユニット構成の遺伝変異に関する研究に昭和62年11月より着手した。作物第二部の各研究室から供試材料の提供等の協力のお陰で、端緒的研究段階ではあるが、いく

つかの知見を得ることができた。各位に感謝しつつ、成果を報告する。

1. グルテニンサブユニットの遺伝的安定性

小麦種子貯蔵たんぱく質の1種であるグルテニンのサブユニット構成の遺伝変異の研究に先立ち、生産年度の気象条件や経年変化の影響を見るために、日本の数品種の1986、1987年産および生物研種子貯蔵施設に保存中の種子についてSDS-PAGE法によって高分子量グルテニンサブユニットのバンドパターンの比較を行った。結果は、同一品種のバンドパターンは、生産年度が異っても全く変化は見られなかった。

また、麦栽培研究室より、倒伏程度と刈り取り時期を異にする4品種、17点のサンプルを譲り受け、前記同様にグルテニンサブユニットのバンドパターンを比較した。同一品種内に全く変化は見られず、品種特性としても遺伝的に安定していることを示した。

2. 日本品種に特徴的に見られるグルテニンサブユニット（145kDバンド）

小麦種子貯蔵たんぱく質を溶媒による分画を行うことなく、全たんぱく質をSDS-PAGEで電気泳動して得られる各種たんぱく質のバンドパターンを図1、図2に示した。図の上方から分子量の大きいグルテニン高分子量（HAV）サブユニット、次に低分子量（LMW）のグルテニンとグリアジンサブユニットのバンド、以下グロブリン、アルブミンの順に泳動されている。今回の泳動条件は

*：現在 北海道立北見農業試験場

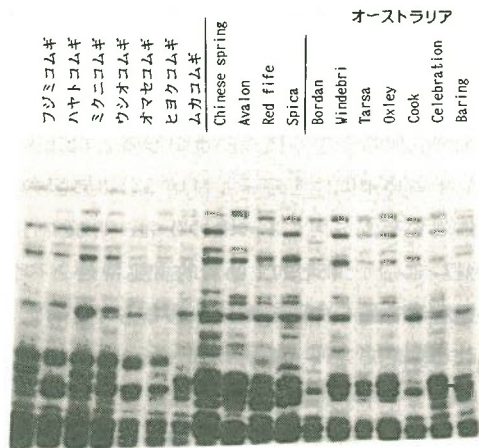


図1 農林登録品種とHMWサブユニット同定済の品種(中央)およびオーストラリア品種との比較

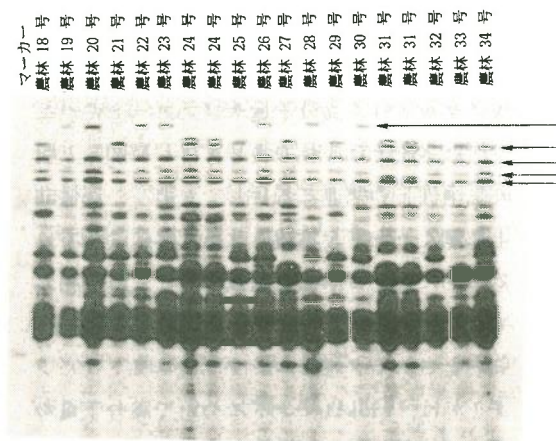


図2 農林登録品種における145kDバンドとPaynenのバンド1との関係

HMWバンドが分別し易い泳動条件で実施した。図1では Payneら(1981)¹⁾が実験に用いた品種とオーストラリア品種を日本品種と比較したものであるが、明らかに外国品種に見られない最も高分子量のグルテニンサブユニットのバンドを持った日本(農林登録)品種が存在する。我々のこの分野での研究歴が浅かったこともあって、この高分子量バンドについての正確な情報を入手できないまま、多数の海外品種(5か国190品種)と国内品種(農林登録品種を含む330品種)との比較によって、このバンドの保有品種は、日本品種にのみ特異的に高頻度で存在することを確認した。そこで、仮に、145kDバンド(kDは

分子量1,000ダルトンを示す)と名付けて、以下の検討を進めた。

3. 145kDバンドと硬軟質性の関係

小麦品種の硬軟質性を簡易的に判定する方法として、硬質結晶粒子の多少がある。これは、小麦粒を粗砕して100メッシュ篩を通過した胚乳を顕微鏡(80~100倍)で見ると図3のようなガラスの破片状で不定形・透明な結晶体と不透明な微粒子とに識別できる。前者が硬質結晶粒子であり、製パン適性の高い硬質品種の必要条件とされ、小麦粉の粒子の粗さと関連する形質である。この硬質結晶粒子

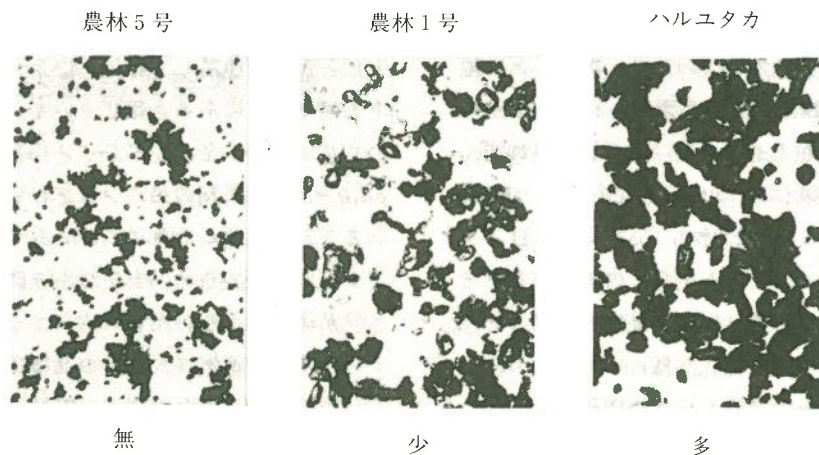


図3 小麦胚乳の硬質結晶粒子の多少

と145kDバンドとの関係を調べたところ、硬質的な品種には、例外なしに、このバンドが存在しないことが判った。イギリスにおいては、グルテニン高分子量サブユニットのバンド（22本をそれぞれの番号を付し識別）と製パン適性との関連に着目して、製パン適性向上に働くバンドを集積させることによって、効率的に高品質品種を選抜することに成功している²⁾。製パン適性にとって、最も関連が強いとされるグルテニンサブユニット（バンド1）は、145kDバンドについて高分子量のバンドであるが、両者には背反的傾向が見られ、二つのバンドを共有する品種は極めて少なかった。このことから、145kDバンドは少なくとも製パン適性に積極的に寄与するたんばく質ではなく、むしろ、軟質性と関連しているものと推察された。

4. 145kD バンドの系譜的検討と遺伝解析

小麦の農林登録品種は、昭和62年現在で、131品種あるが、これらを育成地別に分けて145kDバンド保有品種の割合を比較すると北海道；1/13(13品種中1品種)、東北；1/28、関東・東海・北陸；9/30、中部・近畿・中国；15/30、四国・九州；20/30と南の育成地ほど保有頻度が高かった。

145kDバンドの遺伝解析を行うため、小麦育種研究室の育種材料の中から、145kDバンドを保有する品種としない品種の交配組合せのF₁種子を譲り受け、同一組合せの交配を圃場で行ってF₀種子を準備し、両親と合わせて、半粒分析法により145kDバンドの有無を比較した。農林26号(♀)には、調査した20粒中全てに145kDバンドが観察され、Gamenya(♂)には全粒ともこのバンドが観察されず、F₀種子(胚乳にF₁世代)には全粒に、F₁種子(F₂世代)には200粒中153粒に145kDバンドがあった。このことから、145kDバンドをコードする遺伝子は単因子優性と推定された。

農林登録品種の祖先品種についても145kDバンドの有無を調査し、北海道品種と九州品種の系譜的検討によって、北海道では145kDバンドを持つ品種と持たない品種を交配した場合、これを持たない品種を選抜し、九州で

は逆に持つ品種を選抜する場合の多いことがわかれた。当然のことながら、直接145kDバンドを選抜対象としている訳ではないので、何らかの育種上の重要形質と145kDバンドの連鎖関係を暗示している。この際の実験対象形質が何であったのかは、今後の145kDバンドと栽培的、品質的主要特性との関連解明を通じて明らかにされるものと考えられる。

5. 145kD バンドに関する情報

この145kDバンドについて、新発見であるか否かにかかわらず、日本品種を特徴づけるグルテニンサブユニットであるとして検討を進めながら、このバンドに関する情報を検索したが、Payneがバンド2・2としている文献³⁾を見ながらも、これについての記述がなかったため、145kDバンドと同一かどうかを確認し得ずにいた。また *Aegilops* 属の1種に類似のバンドを有するものがあることも文献上⁴⁾から知っていたが、これも同一のサブユニットかどうか確認できないでいた。しかし昨年の育種学会において、鳥取大学の安室教授のレビュー⁵⁾によって、この疑問が完全に解消した。我々が未だ入手できなかった英国の学術誌上で1983年にPayneら⁶⁾によって発表されていた。

彼等は、日本品種に特異的に見られる、恐らく六倍体小麦が持つ最大分子量のグルテニンサブユニット（バンド）で1D染色体長腕上の遺伝子によってコードされ、サブユニット12と密接に連鎖し、2, 3, 4, 5サブユニットと対立関係にあると報じている。また、このサブユニットをバンド2・2と命名し、*Aegilops* 属の中に類似のバンドを有するものがあることも報告している。したがって、145kDバンドはPayneらのバンド2・2と同一であることが明らかとなった。

この時点で彼等は、最近の品種にこのバンドを取り込んだ場合の製パン適性に与える影響を検討中であったが、その後の文献で見る限り、製パン適性との関連は報告されていない。

6. グルテニン高分子量サブユニット による品種分類

これまで、単一のサブユニットについて見てきたが、高分子量グルテニンサブユニットによって、簡易的な品種分類を試みた。目測によるグループ分けを行い、それぞれのグループごとに、1～2本のサブユニットを対応させ、そのバンドパターンによって分類した。このような簡便方法によっても農林登録131品種を15群に分類することができた。

7. 今後の研究方向

グルテニン高分子量サブユニットの一つをとっても数多くの情報が得られることから、グルテニンの全てのサブユニットについての研究が進めば、それだけで品種同定や加工適性の評価技術としてかなり有力であると思われる。この他のグリアジン、グロブリンおよびアルブミン等全たんぱく質についての研究によってさらに有益な知見が得られることは

言を待たない。手法的にも、筆者らのような育種家のレベルにとどまらず、分析化学、バイオテクノロジーとの共同研究によって、生化学的、遺伝学的に発展性の大きな分野であるとともに、遺伝子操作や形質転換といったバイオテクノロジーにより、これまでになく品質特性を有する小麦品種の作出へと発展する可能性を持っていると考えられる。

文 献

- 1) Payne, P. I., L. M. Holt and C. N. Law (1981) *Theor. Appl. Genet.* 60: 229-236
- 2) Blackman, J. A. and P. I. Payne (1987) *Wheat Breeding*. Chapman and Hall Ltd: 455-485
- 3) Payne, P. I., L. M. Holt, E. A. Jackson and C. N. Law (1984) *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B 304: 359-371
- 4) Payne, P. I., P. A. Harris, C. N., Law, L. M. Holt and J. A. Blackman (1980) *Ann. Technol. Agric.* 29(2): 309-320
- 5) 安室喜正(1988) 日本育種学会 第30回シンポジウム
- 6) Payne, P. I., L. M. Holt and G. J. Lawrence, (1983) *Jour. Cereal Sci.* 1: 3-8



文献情報

鳥の脳置換は新しい歌を作り出す

二つの新しい技術—脳移植とレトロビールスによるラベル法は、脳の発達に沿って脳細胞を追いかけて、脳がどう分化するかを調べる強力な武器となっている。

フランスの研究者たちは、SFの世界のみで可能だと思われていた脳の一部を移植することによってその行動を変化させることに成功した。胚の脳移植が、“少々おかしな”行動を作り出すのではないかという考えをフランスの胚細胞分子生物学研究所(CNRS)の研究のグループは、脳に分化する神経組織の一部のみを移植することによって証明した。彼らは、ごく初期のウズラ胚の神経上皮を予め相当する部分を取り除いておいた鶏胚の脳に移植し、ウズラ鶏キメラを作り出した。研究者たちにとっては、このようなウズラ鶏キメラでは、核の形状が著しく異なっているので、移植されたウズラ由来細胞と本来の鶏由来の細胞を見分けることが可能である。そして、ウズラ脳の一部を移植された20羽の雛のうち5羽においては劇的な行動学的影響がみられた。例えば、前脳の全体あるいは後ろ半分、そして脳の残りの部分の中部あるいは後ろ半分がウズラの移植を持つものは、孵化後ウズラ様の鳴き声をした。さらに、別のものは、鶏様の鳴き声の代わりに途切れ途切れの鳴き声を出した。ニューヨークはミルブルックのロックフェラー大学野外研究センターでは、驚くべき技術の離れ技であるこの胚の脳移植に注目した。そして、彼らは、フランスのグループが用いたような大きな移植片の代わりに脳の小さな独立した小片を移植して種特異的な行動の変化を作り出せるかどうかを研究しようとした。彼らは、“カナリヤが歌を学ぶことを制御する脳細胞のグループを同定したが、まだ鶏とウズラの特有な鳴き方を制御する脳の構造を同定しておらず、各種の

固有の鳴き方を制御する一般的な機構を分離する必要がある”と考え、脳移植の実験を続けている。

この新しい研究の様相は、発生神経生物学の基礎的な概念への挑戦が含まれている。過去20年にわたりエール大学医学部のPaskoとRakicは哺乳動物の大脳皮質の神経細胞が、はっきりとした円柱状に沿って最終目的地に向かって移動するという考えを押し進めてきた。この哺乳動物の脳の発達に関する理論では、多くの神経単位が、放射状パターンで脳室の灰柱(カラム)の外側を脳の表面に向かって移動すると強調している。しかし、脳の皮質とは異なる部分への細胞の移動を発表したCNRSの結果やハーバード大学医学部の結果は、多くの脳の神経単位が発育の間に接線方向に動いて行くことを示した。これらの皮質の非放射線状の移動パターンの程度とその重要性は未だ知られていない。がしかし、鳥類においては、非常に広範囲にわたると考えられている。

この実験結果とラット胎児(胚)の脳皮質を用いた実験系による最近の結果から、どのようにして脳が発達するかという長年の疑問に挑戦できるようになった。CepkoとWalshは、脳室に組換えビールスを注入することでラット胎児脳の神経単位を別々にラベルし、ラット脳皮質において厳密に放射状に分散しなかったことを見出した。これで問題となる点は、神経細胞の移動するパターンとその機構にある。Rakicは、脳室の近くにある神経細胞の小さな塊を、同じ増殖単位からなっていると主張し、それらが、単一あるいは、複数のグリア繊維からなる放射状の経路に従って移動したのだという。しかし、Le DouarinとCepkoは、接線方向に移動していく多くの神経単位を確認した。このLe Douarinの結果をRakicのデータと比較することは難しい。何故ならば、鳥類は哺乳類のような新皮質を持たないからである。

セントルイスのワシントン大学医学部の研究者たちは、Cepkoらの方法に似たレトロビールスによるラベル法を、いくつかの異なる動物種で脳細胞の移動追跡に用いた。そこで、

彼らは、移動パターンについては、Cepko とは異なった結果を引き出した。例えば、彼らは、鶏の視蓋（中脳の上丘、視覚の情報を司る）では、非常に驚異的に明白な単一細胞由来の神経単位が放射状構成を示すことを発見し、発育中のマウス脳皮質を使ったさらに最近の実験で、接線のパターンより放射状のパターンの方が優勢であることを観察した。Cepko と Rakic との差は、どこを強調するかということだけだという意見もあり、本当の論点がそこにあるのかどうかは、未だ疑問である。多くの研究者たちは、脳の発達に関する Rakic の仮説を Rakic 自身よりも厳密に解釈している。問題は、Rakic 自身の発表した、どのようにして神経単位は皮質に移動するかということを説明した図式のある部分に含まれているのかも知れない。研究者は、また、結果の矛盾点が、研究された脳の部位、データを分析したときの動物の年齢、あるいは、種特异性そして実験技術の差から起こりうる誤差などによるものかどうかを区別しながら研究を進めねばならないだろう。

(抄訳 細井美彦)

Bird brain switch leads to new song

Deborah M. Barnes

Science 241: 1434-1435 (1988)

文献情報

トウモロコシにおいて 幼苗相を調節している 非細胞自律突然変異

植物における茎の成長の幼苗から成年相への移り変わりは有性生殖する能力を含めて多くの形態的および生理的形質の統合変化を引き起こす。この相の変化に作用する環境的、栄養的、化学的因子は長年詳しく研究されてきたが基本機構についてはまだわかっていない。相変化の遺伝的調節はトウモロコシの幼苗相を引き延ばすいくつかの突然変異 (Teopod 1, Tp2, Tp3 および Corngrass) を同定

することにより解析されてきた。

ここでは突然変異 Tp 1 を X 線でいったん野生型に戻してもセクターとしては野生型の表現型よりも突然変異の形質を持つことについて報告する。この非細胞自律の機能は非常に珍しく、Tp 1 が幼苗発育を調節する拡散性因子の生成あるいは分配を制御していることを示唆する。

Tp 1 は半優性であり、栄養相の分節数および分げつ数の増加、葉と節間のサイズの減少、表皮ワックスをもつ葉の数と支持根を持つ節間数の増加、雄穂と雌穂の分枝の大きさと程度の減少、そして生殖器官の葉あるいは葉様器官への転換等に特徴付けられた高い多面発現を示す突然変異である。野生型組織のセクターを含む Tp 1 植物は X 線照射種子により作り出された。Tp 1 の消失は o5-1241 の発現 (葉緑体突然変異) により特徴付けられる。24 時間浸水した後、X 線照射 (1 krad, 25 kV, 2 mm Al.) した種子を成熟期まで栽培し、それから o5-1241 の黄色から白色への表現型を示すセクターの検定を行った。セクターを覆う表皮の遺伝子型は蛍光顕微鏡を用いた孔辺細胞の調査により決められる。すなわち、葉緑素をもつ孔辺細胞は青色の光を当てたとき赤色の蛍光を出す、アルビノの孔辺細胞は細胞壁の淡緑色の蛍光を示すだけである。著者は、Tp 1 の生殖に関する表現型、特にこの突然変異のもっとも特徴的なことである雌穂にみられる葉あるいは葉様の構造について注目した。

合計 3500 の植物体から雄穂で 26、雌穂で 14、分げつで 15 のセクターが生じた。これらのセクターのうち 32 は生長頂端分裂組織の L1 (表皮) 層起源であり 23 は L2 (sub-表皮) 層のものであった。側生器官は頂端分裂組織の数層から生じることから予想されるようにセクターのうちほとんどは Tp 1 (緑色) と正常 (白色) の組織を両方含んでいた。けれども、著者はいくつかのケースでは L1 細胞が L2 細胞の下層に置き変わった o5-1241 細胞におけるセクターの部位で遺伝的にホモの組織を観察した。

一つの例外として、セクター内の構造は完

全に、あるいはほとんど完全に野生型細胞からなるときでさえ、セクターの全てはTp 1/Tp 1⁺組織に隣接したものと区別できない突然変異した表現型を持つ。その例外は、正常な小穂を持つ完全なアルビノの側枝を産する雄穂のセクターであった。しかし、雄穂の他のセクターでない部分は正常の表現型であることから、この側枝の表現型が遺伝子型によるものか、あるいはTp 1の不十分な表現度によるものかは明らかでない。

これらのセクターの遺伝子型と表現型が一致しない理由は茎の発育においてTp 1が非常に早期に働くこと、そしてそれ以降の段階で必要とされないことである。分裂組織の細胞がいかなる分化をするかは既に決まっているため、幼苗期でのTp 1の消失はこの細胞の行く末に無関係である。もう一つの可能性はTp 1が突然変異細胞と正常細胞両方の行く末を調節する伝達される因子の生産あるいは分配を制御することである。この場合、Tp 1消失後に続けられる突然変異した表現型の発現はセクター内で野生型細胞に囲まれている突然変異細胞からのこのような因子の放散のためであろう。

著者の結果だけではこれらの可能性を明瞭に区別することができないが、茎の分裂組織の行く末は茎の発育において早期に決定されているという証拠がないため、著者は後者の結果を取る。とくに、この研究において観察されたほとんど全てのセクターは栄養、生殖の両構造を含んでいたという事実は、生殖組織となる決定はX線照射の後に起こったことを示す。同様の結果は発芽時にX線照射した野生型トウモロコシで得られている。このように野生型のセクターによるTp 1の表現型の発現は茎発育において早期に確立される異常な花芽分化の持続を現わすことができない。このために野生型のセクターは周りを囲む突然変異細胞の能力により突然変異の表現型を現わすものと思われる。

非細胞自律の遺伝子はトウモロコシではまれである。それらの発現が遺伝的モザイクで調べられている約40の遺伝子の全ては細胞自律である。ごく少ない例外の場合、非自律は

一つか少数の細胞の距離で見られるだけである。

Tp 1が拡散性因子の生成あるいは分配を制御する可能性は拡散性因子が木本の種において幼苗の状態の維持に重要であるという報告に一致する。いくつかの研究はこの過程にホルモンであるジベレリン酸を関係させているが、まだ明らかではない。Tp 1の生産物の化学的特性は植物における幼苗の発育の調節について理解するうえで重要なことである。

(抄訳 石田祐二)

A non-cell-autonomous mutation regulating juvenility maize

Scott Poethig

Nature 336 : 82-83 (1988)

文献情報

キュウリモザイクウイルス (CMV) 3Aたんぱく質の細胞内分布について

ウイルスは宿主植物に侵入・感染すると多くの場合きわめて速い速度で複製・増殖をくりかえし、やがて病徴を発現させる。ウイルスが宿主細胞内でどのように増殖するかについては以前から興味ある問題であったが、そのメカニズムが分子レベルで研究されるようになったのはごく最近のことである。その結果、ウイルスは基本的には宿主のもつ代謝機能を利用して増殖するが、増殖サイクルのいくつかのステップではウイルス遺伝子がコードしているたんぱく質が関与していることが明らかになってきた。

キュウリモザイクウイルス (CMV) は、宿主範囲が広く植物防疫上重要なウイルスのひとつである。CMVは4本の一本鎖RNAゲノムを含む多粒子性ウイルスでRNA 3のサブゲノムであるRNA 4が外被たんぱく質を、RNA 1と2がウイルス複製酵素のサブユニットをコードしていると考えられている。RNA 3の5'側に存在するオープンリーディ

ングフレームには、分子量35,000のたんぱく質(3Aたんぱく質)がコードされているが、機能については、他のウイルスの遺伝子構成との比較からウイルスの細胞間移行に関係していると推測されているものの直接的証明は得られていない。そこで、CMV 3Aたんぱく質の機能を解析する手がかりを得るため、CMV感染細胞内での3Aたんぱく質の分布が調べられた。CMVの3Aたんぱく質は感染細胞中でのごく少量しか合成されていないため、ウイルス感染葉からこのたんぱく質を直接精製することは不可能である。そこで、3Aたんぱく質遺伝子のcDNAを発現ベクターに組み込み、大腸菌中でProtein A-3Aたんぱく質の融合たんぱく質として合成をさせ、次にこの3Aたんぱく質に対するモノクロナール抗体を作製した。得られた抗体は、CMVや同じウイルスグループに属するtomato aspermy virus (TAV)の*in vitro* translation産物の中で、3Aたんぱく質とのみ特異的に反応したが、同じ3粒子性ウイルスであるBMVの*in vitro* translationとはまったく反応しなかった。さらに、Immunogold法によりCMV感染細胞内における3Aたんぱく質の分布を調べたところ、このたんぱく質は仁に集積していることが明らかになった。また、TAV感染細胞でも同様の結果が得られた。ウイルス細胞間移行への関与が明らかになっているタバコモザイクウイルス、(TMV)30kたんぱく質や3粒子性ウイルスのアルファルファモザイクウイルス(AIMV)の3Aたんぱく質については、これまでウイルス感染組織やプロトプラストを用いてそれぞれのたんぱく質の細胞内分布が調べられているが、いずれも感染組織では細胞壁に、プロトプラストでは核などを含むsubcellular分画に含まれると報告されている。今回CMVで得られた結果は、CMV 3Aたんぱく質が感染細胞の仁に集積していることを示している。この事実から考えると、CMV 3Aたんぱく質は宿主遺伝子の転写を調節することにより、たとえばウイルスの細胞間移行などをコントロールしている可能性はないのだろうか？ 現在までの結果から

では、まだ多くの問題が残されており、3粒子性ウイルスのコードする3Aたんぱく質の機能について論じることはできないが、このたんぱく質の機能発現過程はかなり複雑であることが予想される。

(抄訳 高橋英樹)

Ultrastructural location of non-structural protein 3A of cucumber mosaic virus in infected tissue using monoclonal antibodies to a cloned chimeric fusion protein

Donald, J. Mackenzie and J.H. Tremaine
J.gen. Virol. 69: 2387-2395 (1988)

文献情報

アグロバクテリウムを用いたセロリ形質転換体の作出とその細胞学的・遺伝的分析

アグロバクテリウム(*Agrobacterium*)を用いた植物の形質転換系は、今やごく一般的な技術となりつつある。本論文では、植物体への再生系が確立しており、形質転換系の実験材料として適しているセロリ(*Apium graveolens*)について、カナマイシン耐性遺伝子を有するベクターモンサントpMON 200およびアグロバクテリウムテリウム・ツメファシエンス(*A.tumefaciens*)による形質転換体の作出方法とその細胞学的遺伝的分析の結果について報告している。

セロリは、タイ原産(P1257228, 1年生で、開花の低温要求性がなく、また、2年生である一般品種と交配可能である)を温室で育成した実生を用いた。外植体としてはカルス形成能の高い若令の切片(厚さ2~3mm)をエタノールで1分間、クロロックスで5分間殺菌したものを調整した。

外植体のカナマイシン感受性は、MS改変培地上で検定したところ、25mg/lの濃度で反応し、100mg/l以上ではカルスの形成はほとんどみられなかった。また種子を用いた検定でも、50mg/lで発芽後3週間で葉緑素

欠乏を示していることから、選択培地中のカナマイシン濃度としては、50および100mg/lを用いることとした。

アグロバクテリウムに感染させるための培養は、Horschら(1985)やMcCormickら(1986)の方法によった。すなわち、予めベクターを導入した菌を1晩培養後、殺菌水で30倍に希釈した液に上記外植体を2分間浸し、次いでろ紙で水分を除去後、カナマイシンを50または100mg/l、カーベニシリンを500mg/l含むカルス形成培地で2日間培養した。さらに、培地を4週間おきに交換しながら、27°C暗黒条件でカルス形成を促進させた。この場合、従前の例ではMS培地がセロリの培養に多く用いられているが、本実験ではB5培地の方が適していた。

セロリの形質転換は、ベクター pMON 200を用いた場合のみカルスが形成され、対照としてカナマイシン耐性欠失ベクター pMON 120を用いた場合およびアグロバクテリウムで処理しなかった場合にはカルスが全く形成されなかったことから確認された。なお、本実験で用いたカナマイシン耐性遺伝子には、ノパリン合成酵素を連鎖させており、再分化個体からはノパリンが検出された。カルスの形成率はカナマイシンの濃度が100mg/lのときよりも50mg/lの方が2倍高く、また、最初にカルスが形成されるまでの期間も後者の方が半分に短縮された。また、Horschら(1985)およびMcCormickら(1986)は、支持細胞がカルス形成に効果があると報告しているが、本実験では、タバコまたはセロリの支持細胞はむしろ逆効果となった。

1~2mmに生長したカルスは、再分化培地(カルス形成培地にカイネチン0.04mg/lを含む)で27°C、16時間の明条件で培養した。再分化した個体は、再分化培地を含むGA7コンテナ(米国Magenta社製)に移し生育させた後、パーミキュライト培地、さらに温室へと移し順化を行った。

再分化個体は、全て不定胚経由で、4~6カ月を要したが、最終的に20個体が得られた。

再分化個体には葉緑素欠乏や葉の奇形のような異常が頻繁に観察された。現在、より適した再分化条件を探るため、カルス培養を明条件で行い、外植体を新しい培地に2週間おきに差し換えることにより3カ月以内で再分化させることを試みている。

再分化個体のDNAサザン分析を行った結果、形質転換体と思われる4個体に3.7kb BamHI断片が検出され、またその検出パターンから、1コピーのT-DNAが挿入されていることが示唆された。4個体のうち1個体からノパリンが検出されなかったが、これは他の種でも、ときどき発生していることである。

再分化個体は、その大部分が不稔であり、これらは染色体の数や構造に異常が認められた。また64%が2倍体であったが、1/3のみが正常で、他は、種々の染色体転座が起こっていた。異数体は21%、また、4倍体も1個体見出された。これら多数の染色体異常は、Orton(1985)の結果と一致していることから、長期間の培養によって生じたものであり、形質転換によるものではないと思われた。また、真の形質転換体である3個体の後代についての葉身カルス培養によるカナマイシン耐性の検定試験は、全てメンデル式の単一優性遺伝を示す分離比となっており、1コピーのT-DNAが挿入されていることが確認された。

以上、本研究ではセロリの形質転換が容易であることを示すとともに、染色体の異常が問題となるが、形質転換および再生の条件を最適化し、期間を短縮することで、減少または回避し得ることが示唆された。

(抄訳 牧野竹男)

Celery transformation by *Agrobacterium tumefaciens*: cytological and genetic analysis of transgenic plants

Catlin, D., O. Ochoa, S. McCormick and C.F. Quiros

Plant Cell Reports 7: 100-103 (1988)

外国特派員便り

国際稲研究所 (IRRI) における研究の現状

IRRI 育種部

池田良一

私は、1988年4月1日から農林水産省熱帯農業研究センターの派遣職員として、フィリピン国際稲研究所 (International Rice Research Institute; IRRI) に来ております。ここで私の主たる任務は、IRRIの育種部に属し、現在推進されている日本・IRRI共同研究プロジェクト「灌漑水田における少資材型稲作技術の確立」の下で、稲の白葉枯病抵抗性の育種研究に従事することです。したがって、任期に関するIRRIとの契約は、一応本プロジェクト終了時の今年11月末日までとなっています。

最初にIRRIの概要を紹介することにしましょう。

IRRIは、マニラの南東65kmラグナ州ロスバニョスにあるフィリピン大学ロスバニョス校構内にあります。1960年に、ロックフェラー・フォード両財団の資金とフィリピン政府の援助によって設立され、1962年から研究を開始しました。来年でちょうど創立30年になります。1971年以降は、政府、財団、援助機関の連合体である国際農業研究協議グループ (Consultative Group on International Agricultural Research; CGIAR) から資金供与を受けています。ちなみに1988年度IRRIの予算総額は、特別プロジェクト分を含めて3600万ドル (US\$) を超し、その約1/4を最大の出資国である日本が負っています。しかし、近年研究予算の伸びは鈍り、今年もゼロ成長となるなど厳しい状況になってきています。

IRRIの組織は、理事会の下に所長1名、副所長2名を置き、研究部13、国際サービス部門8、研究支持部門5から成っています。研究部には、農業経済、農業機械、栽培、米

粒化学、昆虫、水管理、作付体系、育種、病理、生理、土壌、土壌微生物および統計の各部があります。一方、国際サービス部門には、印刷・出版部、国際稲遺伝資源センター (IRGC)、国際稲検定計画 (IRTP)、国際土壌肥沃度連絡試験、稲作営農計画、図書室、研修・技術普及部および種子防疫管理室があります。また研究支持部門としては、分析サービス、コンピューターサービス、農場、農薬残渣検定室およびファイトトロンがあります。

現在IRRIの上級研究員は、客員研究員も含めて95名です。この内日本人が5名おり、土壌微生物の渡辺巖博士は、唯一の日本人部長です。研究助手、秘書、圃場作業員など研究を支える職員は、2379名おります。この外に、毎年30名ほどの博士課程修了者や特別研究生が出身国の抱える問題についてIRRIで研究を行っていますし、150名ほどの大学卒業生が修士や博士の学位取得を目指して研究を行っています。さらに毎年600人以上の研



写真1 栽培部、土壌部、土壌微生物部などの研究棟と遠くに管理棟を望む

修生が各種コースの研修を受けるために来所します。圃場面積は252haあり、この外に100haほど陸稲育種用や採種用にフィリピン政府から借用しています。

育種部は、12名の上級研究員を擁する最大の部であり、Gurdev S.Khush 博士が部長を務めております。彼は、アジアにおける緑の革命への貢献が認められ、1987年度「日本賞」をIRRIの前育種部長 Henny M.Beachell 氏と分け合いました。ところで、12名の研究員の分担は、それぞれ灌漑水稲育種、陸稲育種、天水田稲育種、深水稲育種、ハイブリッド稲育種、不良土壌耐性と耐冷性、遠縁交雑、組織培養、遺伝子地図作成、アイソザイムによる各種形質の解析、韓国・IRRI 共同稲育種および白葉枯病抵抗性です。彼等の国籍も、インド3、フランス2、イギリス、オランダ、日本、韓国、ペルー、スリランカ、合衆国各1と国際色豊かです。

IRRI 設立時の目的が、イネの優良品種を育成するとともに、その生産力を十分に発揮させる栽培技術を確認することにあったように、育種に対する周囲の期待と要望は大変なものです。一つの品種が育成されるには、育種だけでなく、他分野との協力・連携が重要であることは改めて言うまでもありません。現在世界に約12万はあると推定されている稲品種の内、既に83,000点を保存しているIRGCは、有用遺伝子の重要な供給源です。また、IRTPに育成系統を送れば、国際的な

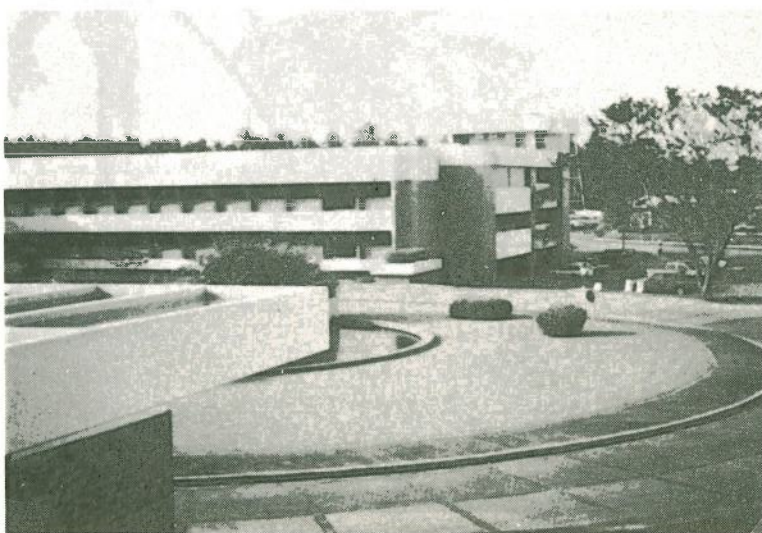


写真2 育種部（私の居室）から病理部、昆虫部などの研究棟を望む

規模で系統適応性検定試験や特性検定試験が実施でき、育種家は有益な情報を得ることができます。さらに、日常的に行われている研究協力の一例として深水稲育種の場合をみてみましょう。育種家は、育成系統の葉いもち抵抗性検定、白葉枯病抵抗性検定については病理部に、トビイロウンカ、タイワンツマグロヨコバイ抵抗性検定は昆虫部に、耐塩性、りん酸欠乏土壌耐性の検定は土壌部に、冠水抵抗性については生理部に、玄米の外観・粒形・大きさ、アミロース含量、糊化温度については品質検定室にそれぞれ依頼するといった具合です。このような他部の育種に対するバックアップシステムは、育種研究室で殆どどの特性検定試験を行う日本の場合と大いに異なる点です。

灌漑水稲の場合、当面の育種目標または研究課題は、① 短期（生育日数100日）で各種病害虫に抵抗性を示す良質系統の育成、② 現在より20%多収系統の育成、③ 耐冷性の付与、④ 不良土壌耐性の付与、⑤ 20%多収ハイブリッドの育成、⑥ 窒素固定能をもつかまたは施肥効率の高い系統の育成、および⑦ 耐病虫性の遺伝研究です。この中で私の仕事は7番目の研究課題に位置づけられます。白葉枯抵抗性育種の研究グループには、私の外に研究助手3名、秘書1名、実験助手1名、圃場作業員8名および博士課程在籍中の日本人学生2名の計16名おります。また日本の熱帯農業研究センターには、日本の白葉枯病菌だけでなく各国の菌系を隔離温室内で接種検定する病理学者がおります。このような人的構成は、国際的共同研究ならではのものであり、またこれはIRRIの特徴の一つでもあります。

我々の課題には、本プロジェクト開始以前に農林水産省とIRRIの間で合意された次の4項目があります。すなわち、

- (1) 国際判別品種の育成
- (2) 日本およびIRRIの菌系と判別品種を用いた遺伝子分析
- (3) アジア各国における品種と菌系との特異反応の解明
- (4) 水平抵抗性の検定、です。

白葉枯病抵抗性については、これまでに *Xa-1*, *Xa-2*, *Xa-3*, *Xa-4*, *xa-5*, *Xa-7*, *xa-8*, *Xa-10*, *Xa-11*, *Xa-12*, *xa-13*, および *Xa-14* の 12 遺伝子が同定されています。この内、*Xa-1*, *Xa-2*, *Xa-11* および *Xa-12* は、いずれもフィリピンの白葉枯病 6 菌系全てに感受性を示すので、フィリピンではこれら 4 遺伝子について検定できず、日本で日本の菌系を用いて検定します。

(1) 国際判別品種の育成では、インド稲、日本稲および日印交配の各品種群を代表して、それぞれ IR 24, トヨニシキおよび密陽 23 号が反復親に用いられ、戻し交配法による近似同質遺伝子系統が育成されています。既に、*Xa-1*, *Xa-3*, *Xa-4*, *xa-5*, *Xa-7*, *xa-8*, *Xa-10* および *Xa-11* の 8 遺伝子については、完成しており、現在 IRTP に供するため種子増殖中です。またこの外の遺伝子についても育成中であります。しかし、最近ビルマの 2 菌系が反復親 3 品種全てに非病原性を示すこと、および北陸の 1 菌系がトヨニシキを除く 2 反復親品種に非病原性を示すことが明らかになったので、現在これら菌系に対する抵抗性遺伝子の除去を図っているところです。

(2) 判別品種の遺伝子分析では、上述の 12 遺伝子について遺伝子の同定が完了し、現在はトリソミック系統や標識遺伝子系統を用いた連鎖分析を行っています。また、韓国の判別品種や品種検索で見出された強品種に対する遺伝子分析も実施しています。

(3) 品種と菌系との特異反応の解明では、IRRI で既に検索されていた抵抗性品種をフィリピン 4 菌系を使って再検定し、品種の反応型により大きく次の 3 型に分けました。すなわち、① Java 14 型、② T KM 6 型および③ D Z 192 型です。Java 14 型は *Xa-3* を、T KM 6 型は *Xa-4* を、また D Z 192 型は *xa-5* 単独かもう一つの遺伝子をそれぞれもち、さらに D Z 192 型には DV 85 型 (*xa-5*, *Xa-7*), Makmal Mehi 型 (*xa-5*, *Xa-4*) および B J

1 型 (*xa-5*, *xa-13*) が含まれます。一方、これら主要な品種群 3 型はイネの生態型と非常によく対応しており、Java 14 型には日本稲、Bulu, 熱帯陸稲が、T KM 6 型には典型的なインド型の Aman, Tjereh が、D Z 192 型は殆んど Aus, Boro に属する品種がそれぞれ含まれておりました。このことは、アイソザイムを用いた品種の分類とも一致しておりました。更にこの外に、*Xa-10* をもつ Cas 209 型が第 4 の品種群として主にビルマに多く存在するようです。

(4) 水平抵抗性については、現在研究実施中であり、まだ明らかな結果は得られておりません。

これら 4 項目以外に、突然変異利用による白葉枯抵抗性系統の育成を試みました。これは、主に九大大学院生田浦悟氏の研究であり、感受性品種 IR 24 の受精卵を N-Methyl-N-Nitrosourea (MNU) を用いて浸漬処理し、M₂ 世代に 2,739 系統中二つの抵抗性分離系統を選抜しました。この後代は、両系統共にフィリピンの白葉枯病 6 菌系全てに抵抗性を示しました。この突然変異遺伝子については、現在既知遺伝子との対立性検定試験や連鎖分析を実施中であります。これまで 6 菌系全てに抵抗性を示したものは *xa-5* と *xa-13* を併せもつ B J 1 のみであったことから、新遺伝子発見の可能性もあります。

以上が、現在我々が実施している研究の概要です。これは、主に私の前任者小川紹文博士（現熱帯農業研究センター）の企画により、実施されてきたものです。最近になって、同質遺伝子系統の種子分譲依頼が各国の研究者から寄せられるようになりました。地道に育成されてきた同質遺伝子系統が、今後抵抗性の機構解明や各国の菌系の分布解明などに利用されることでしょう。それこそ育成者の願いであり、また共同研究の一つの形態であろうと信じております。

特別情報

細胞育種技術の進捗状況

1988年度

農林水産省 農業生物資源研究所

大山勝夫

この資料は1988年12月15日現在の細胞育種技術の進捗状況について、野菜・茶業試験場、果樹試験場、草地試験場、蚕糸・昆虫農業技術研究所および森林総合研究所の協力を得て取りまとめたものである。

1. 特記事項—本年度の特徴—

- 難しいとされていた麦類・ダイズのプロトプラスト培養による再生個体作出の成功例がみられるようになった。
- 組換え DNA 技術によるトランスジェニック植物の作出事例が増加し、樹木においても成功例がみられるようになった。
- 体細胞胚形成系の進展とあいまって2・3の作物で人工種子作成技術の成功例が報告された。

培 養 系

- 茎頂培養系……………茎頂を切り出して培養し直接植物体を得る培養系
- 胚培養系……………受精後の胚を取り出して植物を得る培養系
- 葯培養系……………培地上に葯を置床して花粉由来の半数体又は倍数体を得る培養系
カルス経由, 胚経由を含む
- 花粉培養系……………培地上に花粉を置床して花粉由来の半数体又は倍数体を得る培養系
カルス経由, 胚経由を含む
- 胚珠培養系……………胚珠を培養して植物体を再分化させる培養系
- 単細胞培養系……………Explant→カルス→振とう培養→プレーティング→カルス又は胚→再分化植物を得る培養系
- 生殖細胞胚形成系……………葯培養・花粉培養・胚珠培養からの胚形成系
- 体細胞胚形成系……………体細胞を培養した胚形成系
- プロトプラスト培養系…プロトプラスト→カルス又は胚→再分化植物を得る培養系

技 術

- 遺伝資源保存技術……………カルス, プロトプラスト, 茎頂培養由来の植物等を試験管内又は液体室素中で保存し, 保存後再分化させる技術
- 大量増殖技術……………植物体を大量に増殖する技術, 培養系は何を用いてもよい
- ウィルスフリー化技術…ウィルスをフリー化する技術, 培養系は何を用いてもよい
- 人工種子形成技術……………主として体細胞胚形成系を用いて人工種子を作成する技術
- 試験管内受精技術……………試験管内で胚珠に花粉を受精させ雑種植物を得る技術
- 半数体育種技術……………葯(花粉), 胚珠培養, 種間交雑(*H. bulbosum*利用)によって半数体を作り育種年限を短縮する技術
- 細胞選抜技術……………培養細胞(培養系は何を用いてもよい)によって変異の誘起, ストレスによる選抜を行い, 育種の効率化を図る技術
- 細胞融合技術……………細胞融合により体細胞雑種を作出する技術
- 組換え DNA 技術……………特定の遺伝子, DNA をベクターの使用その他の方法で他の植物細胞に導入し, その形質を再分化植物で発現させる技術

2. 細胞育種技術の現状

生物研細胞育種部 1988年12月15日作成

| 作物群 | 分類 作物名 | 植物体再分化技術 | | | | | | | | 細胞育種技術 | | | | | | | | 備考 | | |
|--------|--------------|------------------|------------------|------|------|-------|-------|--------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------|----------|----------|---------|------------------|-----------------------------------|-----------------|
| | | 培養系系 技術 | 茎頂培養系 | 胚培養系 | 薬培養系 | 花粉培養系 | 胚珠培養系 | 単細胞培養系 | 生殖細胞胚形成系 | 体細胞胚形成系 | プロトプラスト培養系 | 遺伝資源保存技術 | 大量増殖技術 | ウイルスフリー技術 | 人工種子作成技術 | 試験管内受精技術 | 半数体育種技術 | | 細胞選抜技術 | 細胞融合技術 |
| 普通作物 | イネ | ○ | ◎ | ◎ | ○ | × | ○ | ○ | ◎ | △ | ○ | × | △ ¹⁾ | × | ◎ | ○ | ○ | ◎ ²⁾ | × 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術 | |
| | コムギ | ○ | ◎ | ◎ | ○ | △ | △ | △ | ○ | △ ³⁾ | — | — | — | × | × | ◎ | ○ | × | | × |
| | オオムギ | ○ | ◎ | ○ | ○ | △ | △ | △ | ○ | △ ⁴⁾ | — | — | — | × | × | ◎ | ○ | × | | × |
| | ダイズ | ◎ | ○ | △ | △ | ○ | △ | × | ◎ | △ ⁵⁾ | — | — | — | × | × | × | △ | △ | | △ |
| | ササゲ | ○ | △ | × | × | ○ | × | × | △ | × | — | — | — | × | × | × | × | × | | △ |
| | アズキ | ○ | △ | × | × | × | × | × | × | × | — | — | — | × | × | × | △ | × | | × |
| | バレイショ | ◎ | ◎ | ○ | ○ | ◎ | ◎ | △ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | × | × | ◎ | ○ | ◎ | | ◎ |
| | カンショ | ◎ | ○ | △ | × | ◎ | ○ | △ | △ | ○ | ○ | × | ◎ | × | × | × | × | × | | × |
| | トウモロコシ | ○ | ◎ | ○ | △ | △ | ○ | △ | ○ | △ ⁶⁾ | △ | — | — | × | ○ | ○ | ○ | △ | | △ ⁷⁾ |
| | ソルガム | — | ○ | ○ | × | × | ○ | △ | ○ | △ | — | — | — | × | × | ○ | ○ | △ | | × |
| 特用作物 | テンサイ | ○ | — | △ | × | △ | ○ | × | △ | △ | ○ | ○ | — | × | × | △ | △ | × | × | |
| | サトウキド | ◎ | ○ | — | — | — | △ | — | ○ | △ | ○ | ○ | ◎ | — | — | — | ○ | × | × | |
| | コンニャク | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | イグサ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | |
| | ナタネ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | ◎ | ◎ | ○ | ○ | — | — | — | × | × | ◎ | ○ | ○ | ○ | |
| | ラッカセイ | ○ | △ | △ | × | × | × | △ | × | × | × | × | — | × | × | × | × | × | × | |
| 飼料作物 | イタリアンライグラス | ○ | × | ○ | × | × | ○ | × | ○ | △ ⁸⁾ | ○ | × | ○ | × | × | ○ | △ | × | × | |
| | オーチャードグラス | ○ | × | △ | × | × | △ | △ | ○ | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | |
| | チモシー | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | |
| | トールフェスク | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | △ ⁹⁾ | × | × | ○ | × | × | ○ | × | × | × | |
| | ペレニアルライグラス | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | △ ¹⁰⁾ | △ | × | ○ | × | × | ○ | × | × | × | |
| | メドウフェスク | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | ○ | × | × | × | |
| | スムーズブROOMグラス | × | × | ○ | × | × | × | × | × | △ | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | |
| | ダリスグラス | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | パヒアグラス | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | パニカム | × | × | × | × | × | ○ | × | ○ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | △ | × | |
| | ローズグラス | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | アカクローバ | ○ | ○ | × | × | × | ○ | × | ○ | ○ | △ ¹¹⁾ | × | ○ | × | × | × | × | △ | × | |
| | シロクローバ | ○ | ○ | × | × | ○ | ○ | × | ○ | ○ | △ ¹²⁾ | × | ○ | × | × | × | × | × | △ ¹³⁾ | |
| | アルファルファ | ○ | ○ | ○ | × | × | ○ | △ | ○ | ○ | △ ¹⁴⁾ | △ ¹⁵⁾ | ○ ¹⁵⁾ | ○ | × | ○ | ○ | △ | ○ | |
| ベントグラス | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | | |
| ライグラス | × | △ ¹⁶⁾ | △ ¹⁷⁾ | × | × | ○ | × | ○ | △ ¹⁸⁾ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | △ ¹⁹⁾ | | |

| 作物群 | 分類 作物名 | 植物体再分化技術 | | | | | | | | | | 細胞育種技術 | | | | | | 備考 | | |
|------|-----------------|----------|------------------|------|------|------------------|------------------|--------|----------|---------|------------------|------------------|--------|-----------|----------|----------|---------|----|--------|--------------------------|
| | | 培養系系 | 茎頂培養系 | 胚培養系 | 薬培養系 | 花粉培養系 | 胚珠培養系 | 単細胞培養系 | 生殖細胞胚形成系 | 体細胞胚形成系 | プロトプラスト培養系 | 遺伝資源保存技術 | 大量増殖技術 | ウイルスフリー技術 | 人工種子作成技術 | 試験管内受精技術 | 半数体育種技術 | | 細胞選抜技術 | 細胞融合技術 |
| 飼料作物 | ネピアグラス | — | — | — | × | × | ○ | — | ○ | ○ | — | — | — | — | × | × | × | × | × | × 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術 |
| | パールミレット | — | — | — | × | × | ○ | — | ○ | ○ | — | — | — | — | × | × | △ | △ | × | |
| | パーズフット レフォイル | × | × | △ | × | × | ○ | × | △ | ○ | △ ²⁰⁾ | × | × | × | × | △ | △ | △ | △ | |
| | スタイロサントス | × | × | × | × | × | ○ | × | △ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ノシバ | × | × | × | × | × | ○ | × | ○ | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | |
| 果樹 | アンズ | △ | ○ | × | × | △ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ウメ | × | ○ | × | × | △ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ブドウ | ◎ | ○ | ○ | △ | △ | × | ◎ | ◎ | △ | ○ | ◎ | ◎ | × | × | △ | △ | × | × | |
| | カキ | ○ | ○ | × | × | × | × | △ | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | |
| | クリ | ○ | × | × | × | × | × | △ | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ビワ | × | × | △ | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | オウトウ | ◎ | ○ | △ | × | × | △ | △ | △ | △ | × | ◎ | ○ | × | × | × | × | × | × | |
| | 西洋ナシ | ◎ | × | × | × | △ | × | ○ | △ | △ | × | ◎ | ○ | × | × | × | × | × | × | |
| | パイナップル | ○ | × | — | × | × | ○ | × | ◎ | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ブルーベリー | ◎ | △ | △ | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | |
| | キウイ | ◎ | △ | △ | × | × | △ | ○ | ○ | △ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ザクロ | ◎ | × | ○ | × | × | △ | × | ○ | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | |
| | カンキツ | △ | ◎ | ◎ | ○ | ◎ | △ | ◎ | ○ | ◎ | △ | △ | ◎ | × | × | ○ | ○ | ◎ | × | |
| | リンゴ | ◎ | ○ | △ | △ | ○ | × | ○ | ○ | △ | ○ | ◎ | ◎ | × | × | △ | × | × | × | |
| 日本ナシ | ○ | × | △ | × | × | × | × | × | × | ○ | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | | |
| 野菜 | キュウリ | ○ | △ | △ | × | △ | △ ²¹⁾ | △ | ◎ | ○ | × | △ | — | × | × | × | × | × | × | |
| | メロン | ○ | ○ | △ | × | △ | × | × | ◎ | ○ | × | ○ | — | × | × | × | × | △ | △ | |
| | スイカ | ○ | △ | × | × | △ ²²⁾ | × | × | × | × | × | ○ | — | × | △ | △ | × | × | × | |
| | カボチャ | ○ | ○ | × | × | ○ | × | ○ | ○ | × | × | △ ²³⁾ | — | × | △ | × | × | × | × | |
| | トマト | ◎ | ○ | ○ | △ | △ | △ | × | × | ◎ | × | △ | — | × | △ | △ | △ | ○ | ○ | |
| | ナス | ◎ | ○ | ◎ | △ | × | △ | ○ | △ | ◎ | × | △ | — | × | × | ○ | ○ | △ | × | |
| | ピーマン | ◎ | ○ | ○ | × | × | △ | ○ | × | △ | × | △ | — | × | × | ○ | ○ | × | × | |
| | ダイコン | ○ | ◎ | × | × | △ | × | × | × | × | × | × | — | × | × | × | × | △ | × | |
| | キャベツ | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | ○ | ○ | ◎ | ◎ | ◎ | × | ○ | — | △ | △ | ○ | ○ | ◎ | △ | |
| | ハクサイ | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | ○ | ○ | ◎ | ◎ | ○ | × | △ | — | × | ○ | ○ | ○ | ◎ | × | |
| | ブロッコリー | ◎ | ◎ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | △ | ◎ | × | ○ | — | × | △ | ○ | ○ | △ | × | |
| | イチゴ | ◎ | × | △ | × | × | △ | × | ○ | △ | ○ | ◎ | ◎ | × | × | △ | △ | × | × | |
| | タマネギ | ◎ | △ ²⁴⁾ | △ | × | × | × | △ | ○ | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | |

| 作物群 | 分類 作物名 | 植物体再分化技術 | | | | | | | | | | 細胞育種技術 | | | | | | | 備考 |
|-----|-----------|----------|------------------|------|------|-------|-------|--------|----------|---------|------------|----------|--------|------------------|------------------|----------|---------|--------|------------------|
| | | 培養系系 | 芽頂培養系 | 胚培養系 | 薬培養系 | 花粉培養系 | 胚珠培養系 | 単細胞培養系 | 生殖細胞胚形成系 | 体細胞胚形成系 | プロトプラスト培養系 | 遺伝資源保存技術 | 大量増殖技術 | ウイルスフリー技術 | 人工種子作成技術 | 試験管内受精技術 | 半数体育種技術 | 細胞選抜技術 | |
| 野菜 | ネギ | ○ | △ ²⁵⁾ | × | × | × | △ | × | △ | × | × | ○ | ○ | × | × | × | △ | × | × |
| | ニンニク | ◎ | × | × | × | △ | × | × | △ | × | × | ○ | ○ | × | × | × | × | × | × |
| | アスパラガス | ◎ | △ | ○ | △ | × | △ | △ | ○ | △ | △ | ○ | ○ | × | × | △ | △ | × | △ |
| | エンドウ | ○ | △ | × | × | × | × | × | △ | × | △ | △ | — | × | × | × | × | × | × |
| | インゲンマメ | ◎ | ○ | × | × | × | × | × | △ | × | × | × | — | × | × | × | × | × | × |
| | ニンジン | ○ | × | △ | × | × | ◎ | × | ◎ | ◎ | × | ◎ | — | ○ | × | × | ○ | ○ | × |
| | セロリー | ○ | × | △ | × | × | ◎ | × | ◎ | ○ | × | ◎ | — | ○ | × | × | ○ | × | × |
| | レタス | ◎ | × | × | × | × | △ | × | × | ◎ | × | ◎ | — | ○ | × | × | × | ○ | △ ²⁶⁾ |
| | ゴボウ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | — | × | × | × | × | × | × |
| | サトイモ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | ○ | ○ | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × | × |
| | ヤマノイモ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | △ | ○ | △ | ○ | × | × | × | × | × | × |
| | ハウレンソウ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | △ | × | × | — | × | × | × | × | × | × |
| | フキ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | ○ | ○ | × | × | × | × | × | × |
| 花 | キク | ◎ | △ | × | × | × | △ | × | × | ○ | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × |
| | ツツジ | ◎ | × | × | × | △ | × | × | × | ○ | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × |
| | ユリ | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × | × |
| | チューリップ | △ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | △ | × | × | × | × | × | × |
| | カーネーション | ◎ | × | × | × | △ | × | × | × | △ | ○ | ○ | ◎ | × | △ ²⁷⁾ | × | × | × | × |
| | ラン類 | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × | × |
| 桑 | クワ | ◎ | ◎ | △ | × | × | × | × | × | × | ◎ | ◎ | × | △ ²⁸⁾ | × | × | × | × | |
| 茶 | チャ | ◎ | ◎ | ○ | × | × | × | × | ○ | × | × | ○ | × | × | × | △ | × | × | |
| タバコ | タバコ | ◎ | — | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | ◎ | — | ◎ | — | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | |
| 果樹 | モモ | ◎ | ◎ | △ | × | △ | × | ○ | × | × | × | ◎ | ◎ | × | × | × | ○ | × | |
| | スモモ | ◎ | ○ | × | × | △ | × | × | × | × | × | ○ | ○ | × | × | × | × | × | |

| 作物群 | 分類 | 植物体再分化技術 | | | | | | | | | | | 細胞育種技術 | | | | | | | 備考 | | | |
|--------|----------|----------|-------|-------|----------|------|------|-------|-------|--------|----------|---------|------------|----------|--------|-----------|----------|----------|---------|----|--------|------------------|--------------------------|
| | | 培養系技術 | 茎頂培養系 | 腋芽培養系 | 枝条(端)培養系 | 胚培養系 | 葯培養系 | 花粉培養系 | 胚珠培養系 | 単細胞培養系 | 生殖細胞胚形成系 | 体細胞胚形成系 | プロトプラスト培養系 | 遺伝資源保存技術 | 大量増殖技術 | ウィルスフリー技術 | 人工種子作成技術 | 試験管内受精技術 | 半数体育種技術 | | 細胞選抜技術 | 細胞融合技術 | 組換えDNA技術 |
| 樹 | スギ | ○ | × | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術 |
| | ヒノキ | × | × | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | アカマツ | × | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | クロマツ | × | × | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ワカマツ | × | × | ◎ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | カラマツ | × | × | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | グイマツ雑種 | × | × | ○ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ギンドロ | ◎ | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | ○ | × | |
| | ヤマナラシ | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | ○ | × | |
| | ヒロハハコヤナギ | ◎ | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | ○ | × | |
| | イタリーポブラ類 | ◎ | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | ○ | △ ²⁹⁾ | |
| | トチノキ | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | シラカンバ | ◎ | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | ◎ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | |
| | クヌギ | × | ○ | × | ◎ | × | × | × | × | × | ○ | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | コナラ | × | ○ | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ミズキ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | キハダ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | コウゾ | × | × | ◎ | × | × | × | × | ○ | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ミツマタ | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | キリ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| ミズメ | ○ | ○ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | | |
| クチナン | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | | |
| ハクチョウゲ | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | | |
| シナノキ | × | ○ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | | |
| サクラ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | | |
| 木 | ジンチョウゲ | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ヒムロ | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | フユボダイジュ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ユーカリ | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | アキニレ | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | イヌエンジュ | × | × | × | ◎ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| | ケヤキ | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | |
| ハゼノキ | × | × | ○ | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | × | | |

3. 細胞育種技術の進捗状況文献

(1988年調査で新たに△になった文献を中心に記載)

- 1) イネ
吉田泰二・大槻義昭・小田文明・高 在顕(1988) イネのF₁の*in vitro*における大量増殖法 I. 液体培養系の作出と効率的再分化法. 育雑38(別2):140
- 2) イネ
大野清春・高岩文雄・菊池尚志・原田 聡(1988) イネ トランスジェニック植物体の作出, 育雑(別2):152
若狭 暁・池田穰衛(1988) トランスジェニック イネの作出. 育雑38(別2):160
- 3) コムギ
Rita Harris et al. (1988), Callus formation and plant regeneration from protoplasts derived from suspension cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Reports* 7:337-340
- 4) オオムギ
Renate Luhrs and Horst Lorz (1988) Initiation of morphogenic cell-suspension and protoplast culture of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta* 175:71-81
- 5) ダイズ
Zhi-ming Wei and Zhi-hong Xu (1988) Plant regeneration from protoplasts of soybean (*Glycine max* L.). *Plant Cell Reports* 7:348-351
- 6) トウモロコシ
Rhodes, C.A. et al. (1988) Plant regeneration from protoplasts isolated from embryogenic maize cell cultures. *Bio Technology* 6(1) 56-60
- 7) トウモロコシ
Rhodes, C.A. et al. (1988) Genetically transformed maize plants from protoplasts. *Science* 240:204-207
- 8) イタリアンライグラス
Dalton, S.J. (1988) Plant regeneration from cell suspension protoplasts of *Festuca arundinacea* Schreb., *Lolium perenne* L. and *L. multiflorum* Lam. *Plant Cell Tissue & Organ Culture* 12:137-140
- 9) トールフェスク
Dalton, S.J. (1988) Plant regeneration from cell suspension protoplasts of *Festuca arundinacea* Schreb. (tall fescue) and *Lolium perenne* L. (perennial ryegrass). *J. Plant Physiol.* 132:170-175
- 10) ベレニアルライグラス
Dalton, S.J. (1988) Plant regeneration from cell suspension protoplasts of *Festuca arundinacea* Schreb. (tall fescue) and *Lolium perenne* L. (perennial ryegrass). *J. Plant Physiol.* 132:170-175 (1988)
- 11) アカクローバ
Cheyne, V.A. and P.J. Dale (1980) Shoot tip culture in forage legumes. *Plant Sci. Lett.* 19:303-309
- 12) シロクローバ
Cheyne, V.A. and P.J. Dale (1980) Shoot tip culture in forage legumes. *Plant Sci. Lett.* 19:303-309
- 13) シロクローバ
White, D.W.R. and D. Greenwood (1987) Transformation of the forage legume *Trifolium repens* L. using binary *Agrobacterium* vectors. *Plant Mol. Biol.* 8:461-469
- 14) アルファルファ
Cheyne, V.A. and P.J. Dale (1980) Shoot tip culture in forage legumes. *Plant Sci. Lett.* 19:303-309
- 15) アルファルファ
Redenbaugh, K. et al. (1987) Scale-up: Artificial Seeds in Plant Tissue and Cell culture (eds. C.E. Green, D.A. Somers, W.P. Hackett and D.D. Biesboer) 473-494 Alan R. Inc., New York
- 16) ライグラス
Eizenga, G.C. et al. (1986) Cytological and isozyme evaluation of Tall Fescue × Italian Ryegrass hybrids. *Plant Breeding* 97:340-344

- 17) ライグラス
Rose, J.B. et al. (1987) Anther culture of *Lolium temulentum*, *Festuca pratensis* and *Lolium* × *Festuca* hybrids I, II. *Ann. Bot.* 60:191-201, 203-214
- 18) ライグラス
Dolton, S.J. (1988) Plant regeneration from cell suspension protoplasts of *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne*. *J. Plant Physiol.* 132:170-175
- 19) ライグラス
Potrykus, I. et al. (1985) Direct gene transfer to cells of a graminaceous monocot. *Mol. Gen. Genet.* 199:183-188
- 20) パーズフットレフオイル
Orshinsky, B.R. and D.T. Tomes (1985) Effect of long-term culture and low temperature incubation on plant regeneration from a callus line of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.). *J. Plant Physiol.* 80:766-770
- 21) キュウリ
Paula, P. Chee et al. (1988) Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension cultures of *Cucumis sativus* L. *Plant Cell Reports* 7:274-277
- 22) スイカ
鈴木千代吉ら. (1987) ウリ科作物属間の胚珠培養による植物体の獲得 昭和62年春園芸学会講演要旨 214-215
- 23) カボチャ
Pink, D.A.C. and D.G.A. Wolkey (1984) Rapid propagation of *Cucurbita pepo* L. by culture of meristem tissue. *Scientia Horticultural* 24:107-114
- 24) タマネギ
Dolezel, J., F.J. Novak and J. Luzni (1980) Embryo development and *in vitro* culture of *Allium cepa* and its interspecific hybrids. *Z. Pflanzensuchtz* 85:177-184
- 25) ネギ
折館寿郎 (1988) ネギ培養細胞からの不定胚形成と植物体再生. 育雑 38(別2):32-33
- 26) レタス
菊池尚志ら (1988) エレクトロポレーション法によるレタスの形質転換. 育雑 38(別2):56
- 27) カーネーション
國本忠正・柴田道夫・天野正之 (1988) カーネーション葉肉プロトプラスト由来再生植物の変異について. 園学要旨 昭和63年秋 506-570
- 28) クワ
Bapat, V.A. et al. (1987) Propagation of *Morus indica* L. (mulberry) by encapsulated shoot buds. *Plant Cell Reports* 6:393-395
- 29) イタリーポプラ類
片山義博・柳田恒一郎・諸星紀幸・原口隆英 (1988) ポプラの分子育種に関する研究 (第2報), ポプラカールの分化誘導と Ti プラスミド導入系の確立. 第33回リグニン討論会要旨集 5-8

編集後記

BRAIN テクノニュース 12号をお届けします。月日のたつのは早いもので、創刊号を出してから、年間6号、本号で2巡したことになります。お蔭様で編集の方向も少しずつ固まっていくようで喜んでいきます。今後とも読者の皆様の御要望にそえるように努力したいと思っていますので宜しくお願いいたします。

(大畑)

ブレイン テクノニュース (第12号)

平成元年 3 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

© Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 1989