

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 18 号

MARCH 15, 1990



表紙説明

凍結・融解胚より発育した世界で最初の子豚(黒)

白い子豚は妊娠を成立させるために同時に移植した新鮮胚より発育したもの

(本文 8 ページ)

本号の紙面

国内情報	1
ハイブリッドライス用新雄性不稔系統, サテライトRNAによるCMV耐性タバコ, 胚培養によるユリの新品種, 凍結保存胚由来の子豚	
文献情報	12
形質転換植物による抗体の作成, 傷感染性病原菌へのクチナーゼ遺伝子導入, 植物ミトコンドリアのRNAの編集, 海産共生細菌による甲殻類の病原菌防御, トウモロコシのIAA結合タンパク, 植物プランクトンと海産魚類の着底数	
国際学会レポート	20
第11回国際カンキツウイルス学会議	
特別情報	23
細胞育種技術の進捗状況	

目 録

国内情報

丸山清明

ハイブリッドライス用新雄性不稔系統の開発…………… 1

小鞠敏彦

サテライトRNA遺伝子の利用による

キュウリモザイクウイルス病耐性タバコの開発…………… 3

春木和久

胚培養を利用したユリの新品種育成…………… 6

小栗紀彦

凍結保存胚由来の子豚生産…………… 8

文献情報

形質転換植物に抗体を作らせる…………… 12

傷感染性病原糸状菌へのクチナーゼ遺伝子の挿入

——それによって無傷植物への感染が可能——…………… 13

植物ミトコンドリアにおけるRNAのエディティング(編集)…………… 14

甲殻類の胚寄生病原真菌からの海産共生細菌による化学的な防御…………… 15

フォトアフィニティーラベルを用いたトウモロコシのIAA結合タンパク質の同定…………… 17

植物プランクトンによる一次生産量の変動と温帯性海産魚類の着底数の変化…………… 18

国際学会レポート

今田 準

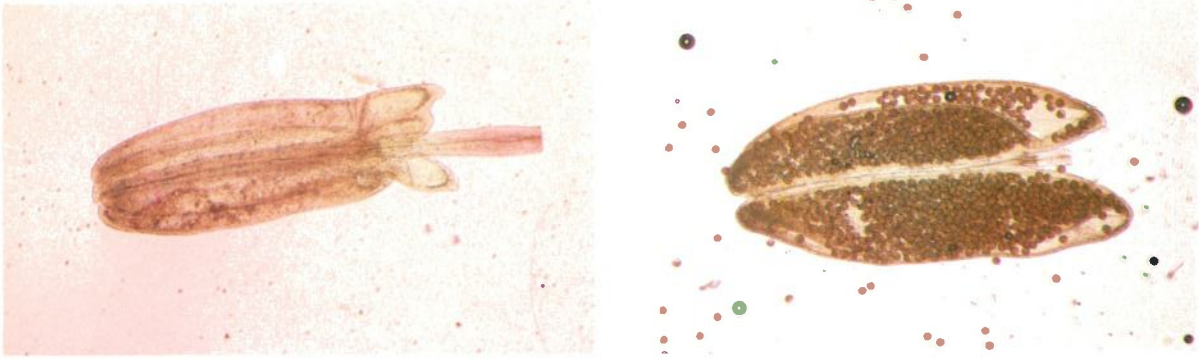
第11回国際カンキツウイルス学会議に参加して…………… 20

特別情報

大山勝夫

細胞育種技術の進捗状況——1989年度…………… 23

ハイブリッドライス用新雄性不稔系統の開発 (本文 1 ページ)



温度感応遺伝子雄性不稔イネの葯(おしべ)

左：昼34°C～夜27°C区，花粉が形成されない
右：昼25°C～夜18°C区，正常に花粉が充実する

サテライト RNA 遺伝子の利用によるキュウリモザイクウイルス病耐性
タバコの開発 (本文 3 ページ)



T73-sat RNA 遺伝子導入タバコ(右)と非導入タバコ(左)への
CMV接種結果

胚培養を利用したユリの新品種育成 (本文 6 ページ)



左：シンテッポウユリの花(母株)，中：カノコユリの花(花粉親)
右：シンテッポウユリ×カノコユリ(SK-1)の花

国内情報

ハイブリッドライス用新雄性不稔系統の開発

農林水産省 農業研究センター ヘテロシス育種研究室

丸山 清明

1. 研究の発端

雌雄同花で自家受粉のイネでF₁種子の実用的な採種が可能となったのは、細胞質雄性不稔 (Cytoplasmic Male Sterility, CMS) の利用による。細胞質雄性不稔とは細胞質内の遺伝物質に起因して正常な花粉が形成されない現象をいう。CMSを利用した採種システムを利用して中国では1988年に1,200万ヘクタールのハイブリッドライスが作付された。これは、日本の総作付面積の6倍に近い数字である。しかし、三系法と呼ばれるCMSを利用するシステムは、図1の左側に示したようにF₁採種が煩雑である。

1973年に中国湖北省の石明松氏は1株の不稔稲を見つけた。研究を重ねた結果、この稲は13時間45分以上の長日条件で雄性不稔になり、それ以下では可稔になる突然変異系統であった¹⁾。この日長感応遺伝子雄性不稔 (Phytosensitive Genic Male Sterility, PGMS) を使ったシステムは二系法とよばれ、図の右側に示したように、CMSにくらべてシステムが単純である。

PGMSに関する情報が全農の日比野進氏によって筆者らのところへもたらされたのが1986年のことであった。同時に、種子の入手をお願いしたが、きわめて困難な状況とのことであった。そこで、千葉大学の池橋宏教授のすすめもあり、PGMSを突然変異で誘発することを試みた。幸い、農水省放射線育種場で種子照射した後1世代栽培した材料が低温貯蔵されていたので、そこから出発することにした。

以下に記述するように、得られたものは日

長ではなく30℃程度の高温に感応して不稔に転換する系統、すなわち温度感応遺伝子雄性不稔 (Thermosensitive Genic Male Sterility, TGMS) であった。しかし、ハイブリッドライスへの応用を考えるとTGMSはPGMSと同等に有用なものと考えられた。すなわち、盛夏期に(あるいは熱帯と亜熱帯で)F₁採種栽培し、育種と増殖は早植や晩植(熱帯では山地)で行えばよい。そこで、この系統の特性を詳しく調べることにした。

2. 育成の経過

1983年に農水省放射線育種場(茨城県大宮町)でレイメイの種子に20KRのガンマー線を照射し、圃場に栽培したM₁個体から1穂ずつ抜き穂し、低温保存した。1987年にM₂世代を農業研究センター圃場に穂別系統として2,500系統を栽培した。播種日は6月1日 で出穂日は8月27日前後であった。10月に明

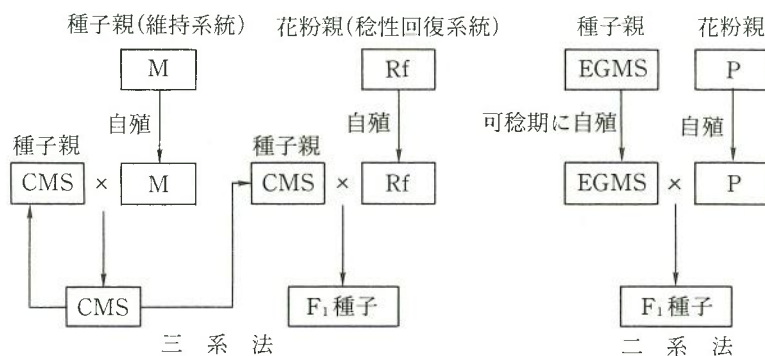


図1 ハイブリッドライス採種システムの比較

左側：細胞質雄性不稔 (CMS) を用いた三系法：種子親 (維持系統, M) を育成後、連続戻し交雑でCMS化する、CMS系統の増殖栽培が必要であるし、花粉親には稔性回復遺伝子 (Rf) が必要である。
右側：環境感応遺伝子雄性不稔 (EGMS) を用いた二系法：環境条件で稔性が転換する遺伝子雄性不稔ではCMS化とCMSの増殖栽培と稔性回復遺伝子が不要なので、育種と採種システムが単純化する。

瞭な不稔個体を分離した系統から1個体ずつ掘り上げて、ポットに植えて温室に搬入した。合計281系統であった。12月に、新たに出た穂が良く稔実している4個体を見いだした。この時は、目的とした長日不稔系統が得られたと思った。しかし、翌1988年1～3月に温室中で人工照明による長日条件でM₃系統を育てたところ期待に反して結実してしまった。また、圃場で早植（5月11日移植、8月1日出穂）したM₄系統は可稔になり、晩植（6月19日移植、8月20日出穂）したものは不稔になった。そこで、4系統の内、明瞭に不稔が出現した1系統について、5基の人工気象室を使い温度と日長に対する反応を詳しく調べた。その結果、得られた不稔系統は温度のみに反応することを確認した。1988年の1～3月に実ったのは、温室のボイラーの暖房能力の不足のためであった。得られた系統にはH89-1の系統番号を付けた。

3. TGMS系統, H89-1の特性

(1) 温度と日長に対する反応

表1に示したように、昼31℃—夜24℃区では健全花粉は形成されず不稔となった。しかし、25℃—18℃区では正常に近い結実率になった。

また、この反応が本質的に日長と無関係のことも明らかになった。すなわち、H89-1は温度にのみ感応して健全な花粉が形成されなくなり、結実率が低下する。別の実験から、

表1 H89-1の温度・日長条件による稔性および花器の変化

品種・系統	温度(°C)	日長	結実率	健全花粉率	
H89-1	25-18	15.0	92.6%	94.3%	
		12.0	70.4	72.6	
	28-21	15.0	14.3	16.7	
		13.5	9.6	35.0	
	31-24	12.0	0.9	10.9	
		15.0	0.0	0.0	
	34-27	13.5	0.3	0.0	
		12.0	0.2	0.0	
	レイメイ	31-24	15.0	97.3	98.7
			13.5	97.3	94.9
12.0			90.0	94.1	

注) 人工気象室での試験。

感応する時期は出穂前3週間の前後数日であると決められた。この時期は穎花原基分化期から雄ずい原基分化期を経て花粉母細胞分化期にあたる。これは、障害型冷害を引き起こす減数分裂期よりも1週間から10日早い時期である。また、不稔の発生に関与するのは最高気温であることを確認している。したがって、H89-1は極端に高温障害を起こし易い系統と考えられる。

(2) TGMSの遺伝特性

M₂系統で最初の選抜を行ったとき、H89-1の原系統は8個体のうち2個体が不稔個体と記録されている。このことがすでに単因子劣性支配を示唆しているが、レイメイ等と交配したF₁個体とF₂集団の観察結果等からもこのことを確認した。すなわち、F₁は正常に実り、F₂では約1/4の不稔個体が分離した。TGMSの座乗する遺伝子座については試験中である。

(3) 生態的・形態的特徴

H89-1が雄性不稔であり雌性器官は正常に機能することは、不稔期のH89-1に他品種の花粉を交配して正常な稔実が得られることから確認できた。形態は原品種レイメイに類似するが、軽度の生育抑制がみられ、穂数がやや少ないことや、発芽勢がレイメイに比べて劣るという好ましくない変異を付随している。しかし、TGMSは劣性形質なのでF₁植物は正常となる。また、他の雄性不稔系統と同様に、開花時刻がやや遅れる傾向にあるので、柱頭露出性の導入が効果的と考えられる。

4. TGMSの長所

TGMSを用いた育種とF₁採種はCMSの場合に比べて以下の四つの長所がある。

(1) 雄性不稔系統の増殖が著しく効率化され、種子の純度も高まる。

これはCMSの増殖にはCMSと維持系統とを交互に植えて他花受粉させる必要があることと、TGMSは自家受粉するため、異品種の花粉による汚染の機会が少なくなるからである。

(2) 母本をCMS化する必要がないため、

育年限が数年短縮される。

これは優良母本を育成後、それを種子親として利用するまでにCMS化する必要があるからである。そのためには最低5～6回の戻し交雑が必要である。

(3) 花粉親に稔性回復遺伝子を必要としなため組合せの選択が容易になる。

これはCMSではF₁世代を可稔とするため、花粉親が稔性回復遺伝子を保有することが前提となるからである。また、インド型多収品種の大半は稔性回復遺伝子をもつ。このためCMS化できないので、花粉親としてのみ利用可能であるが、TGMSではその制約がない。

(4) 耐冷性などに関して細胞質の悪影響がない。

これは現在使われている配偶体型雄性不稔はF₁で正常花粉数が半分になり、低温襲来時に冷害を助長する恐れがあるが、TGMSではその心配がないからである。

以上のように、TGMSとCMSを比較するとTGMSが総合的に優れており、ハイブリッドライス育種は今後のこのシステムを利用する方向に進むものと考えられる。

5. 今後の開発のために

F₁採種栽培では母本の自殖は種子純度を下げる大きな要因になる。H89-1ではおよそ30℃に稔性転換点があるが、採種栽培で出穂前3週間前後に確実に高温に遭遇できる地域でないと採種栽培は困難となる。関東の平野部では8月の第2半旬が最も高温で、最高気温の平年地は30℃をこえるが、安全なF₁採種地帯とはいえない。F₁採種はやはり九州や沖縄などの暖地が好ましいと考えられる。しかし、育種的に転換温度を下げることも考えられるので、そのような観点からの育種も行う予定である。また、温帯では安定したPGMSの方がTGMSより使いやすいとも考えられ、その開発を急ぐ必要がある。

なお、ここで育成されたH89-1に関係者に広く利用していただくために、農林水産省の中間母本に登録申請中である。

文 献

- 1) 石明松ら(1985) 中国農業科学, 1985年2期, 44-48

国内情報

サテライトRNA遺伝子の利用によるキュウリモザイクウイルス病耐性タバコの開発

日本たばこ産業株式会社 遺伝育種研究所

小鞠 敏彦

1. はじめに

キュウリモザイクウイルス(CMV)は、広範な植物に感染するウイルスで、タバコ、トマト、キュウリなど多数の作物に毎年大きな被害をもたらしている。アブラムシによって媒介されるウイルスなので、近くにCMVに罹病した他の野菜や雑草などがあると、いくら注意しても防除は容易ではない。したが

って、CMV耐性の品種があれば、その価値は非常に高い。交配可能な近縁の植物の中から耐病性のものを捜し、これを母本として栽培品種に耐病性を導入するというのが普通の育種のやりかたである。しかし、CMVの場合は、ナス科にも、ウリ科にも耐性の植物が見あたらず、手の出しようがなかったのである。タバコには、多少CMVに罹りにくい品種も2～3あるので、これをなんとか利用しようという試みも行われたが、成功には至ら

なかった。

ここ数年、遺伝子工学の手法を活用して、耐病性、耐虫性の植物を作成したという研究が相次いで報告されるようになった。私たちも、このような手法を使って作物を改良することに取り組んでいる。ここでは、CMV耐性品種という長年のタバコ育種の課題に挑戦するため、弊社の生命科学研究所（担当：高浪，増田）と遺伝育種研究所（同：筆者）で行っている研究について紹介したい。

2. サテライトRNA

CMVはRNAウイルスで、ウイルス粒子には通常4種類のRNA(RNA1~RNA4)が含まれている。RNA1とRNA2は、ウイルスRNAの複製に関する遺伝子を持ち、RNA3の前半分の遺伝子は、感染植物中でのウイルスの細胞間移動に関与していると考えられている。また、RNA4は、RNA3の後半分と同一のもので、ウイルスの外被タンパクの遺伝子を持っている。この4種以外に、もうひとつRNAが含まれている場合があり、これが、サテライトRNAである。サテライトRNAは小さなRNAでタンパク質に翻訳される遺伝子は持たないとされており、その増殖はウイルスRNAが持つ遺伝情報に依存していて、それ自身では増殖することはできない。ウイルスの増殖には必要のない付随するRNAという意味でサテライトと言われているのである²⁾。

CMVのサテライトRNAの重要な性質の一つは、罹病植物の病徴を変化させることである。サテライトRNAを持つCMVによる病徴は、これを持たないものと比較して著しく軽微である場合が多い。これは、ウイルスRNAが増殖する際に、サテライトRNAという余分なものを一緒に増殖しなければならないので、結果的にウイルスの増殖が抑制されるためではないかと考えられているが、はっきりとは解明されていない現象である。

また、病徴の変化の様相は、CMVの系統、サテライトRNAの系統、宿主植物種の組み合わせによりさまざまである。例えば、Y-sat

RNAというサテライトRNAは、キュウリ、タバコなどの病徴を著しく軽減するが、タバコにおいては、さらに葉色を黄変させる特徴がある。また、トマトでは、逆に病徴が激しくなる場合もある。

3. サテライトRNAの利用

近年、ウイルス病の生物学的防除に関する研究が盛んになり、タバコモザイクウイルス(TMV)の場合、弱毒ウイルスを用いた防除法がすでに実用化されている。例えば、あらかじめトマトの苗に弱毒のTMVを人工接種しておく、その後強毒ウイルスに感染しても被害を受けにくくなるのである。サテライトRNAを持つCMVを弱毒ウイルスとして利用する防除法の開発も検討されている。

しかし、私たちは、サテライトRNAの遺伝子を植物に組み込むのがよいと考えた。植物自身が、少量のサテライトRNAを常時生成していれば、サテライトRNAを持たない病徴の激しいCMVが感染しても、サテライトRNAを持つものが感染したのと同様な状態となり、病徴が軽減されると考えたのである。

この考え方に従って実験を進めたのであるが、途中でD. C. Baulcombeらのイギリスのグループによりよく似た研究報告がなされた³⁾ため、世界初という名誉は逃すこととなった。しかし、彼らの未解明の点の解析も含め、よりよい耐性遺伝子の開発をめざすための研究を進めた。

4. サテライトRNA遺伝子のタバコへの導入

植物に組み込むためにはDNAでなければならぬので、単離精製したサテライトRNAから逆転写酵素を使ってcDNAを合成した。そして、植物中で働くプロモーターを接続し、植物中でRNAに転写されるようにした。これを、カナマイシン耐性遺伝子をもつTiプラスミド系のベクターを介して植物に導入した(図1)。

最初の実験では、Y-satRNAとタバコの組み合わせを用いることにした。タバコは遺伝子導入が容易であり、また、Y-satRNA遺伝子がうまく働けば、CMV接種により特徴的な葉色黄変が起こるので発現調査が容易であるからである。また、Baulcombeらは、サテライトRNA遺伝子を二つ繋いだものでないと機能しないと報告していたが、これに疑問を持ったので、一つだけのもの(monomer)と二つ繋いだもの(dimer)の両方を作成しタバコに導入した。

得られた形質転換タバコは形態的に正常であり、サテライトRNA遺伝子による悪影響は認められなかった。これらの植物からDNAとRNAを抽出し、サザンハイブリダイゼーションおよびノーザンハイブリダイゼーションによって、Y-satRNA遺伝子の組み込みと転写を確認した。

5. サテライトRNA遺伝子の効果

形質転換タバコにCMVを接種したところ、すべてのカナマイシン耐性植物に、Y-satRNAを含むCMVの場合と同様な病徴の軽減と葉色の黄変が観察された。よって、この手法によりCMV耐性植物を作出することができることが確認された。また、monomerとdimerの遺伝子に差は認められず、monomerで充分であることが判明した。

接種植物のRNAを分析したところ、多量のY-satRNAが検出され、形質転換タバコ中の転写物からCMV感染によってサテライトRNAが増殖したことが確認された。また、これについても、monomerとdimerの差はなく、両遺伝子の転写物の生物学的機能に差のないことが判明した。

次代の植物について調査したところ、Y-satRNAの発現とカナマイシン耐性遺伝子は正常に後代に遺伝することが確認された。

Y-satRNAによる葉色の黄変は、ウイルス学的にも植物生理学的にも興味深い現象である。当初は、少量のY-satRNAを発現している形質転換植物ではなんらかの葉色変化が起きるかもしれないと考えた。しかし、実

験の結果、CMV接種によるY-satRNAの大量増殖がなければそのような現象は起きないことが判明した。なお、Y-satRNAの詳細な解析により、タバコの黄変に関与しているのはY-satRNAの中央部分であり、トマトの病徴激化にはその3'末端部が関係していることが明らかになった⁴⁾。

6. よりよいサテライトRNA遺伝子の開発

サテライトRNA遺伝子をウイルス病防除の手段として実用的に利用するためには、病徴抑制効果が高く、悪影響の少ないサテライトRNAを使用する必要がある。この目的のため、栃木県下でCMVサテライトRNAの採集を行い、新たに4系統を単離した。この中で、T73-satRNAと命名したものは、タバコ、トマトなどに対して、黄変、病徴激化などの悪影響がなく病徴抑制効果が高いので、とくに優れていると考えた。

そこで、T73-satRNAを用いて、Y-sat

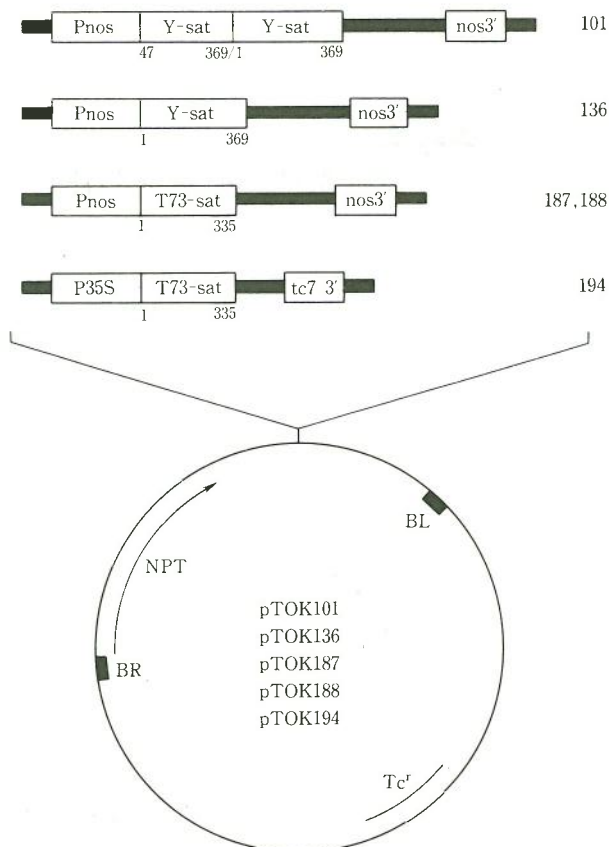


図1 導入したCMVサテライトRNA遺伝子の構造

RNAのときと同様に、cDNAクローニングと遺伝子構築を行いタバコに導入する実験を行った。この場合は、monomerの遺伝子だけを作成した(図1)。その結果、形態の正常な組換え植物を得ることができ、CMVを接種したところ、病徴の明瞭な軽減が認められた(口絵)。予想どおり、葉色黄変などの悪影響は観察されなかった。

現在、導入遺伝子の後代への遺伝などについて調査しているところである。また、この場合は、2種類のプロモーターを使用しているので、その比較も行う予定である。

7. ま と め

以上述べたように、CMVのサテライトRNA遺伝子を利用してCMV病耐性タバコを作出することができた。この遺伝子の特徴の一つは、タンパク質に翻訳されないということであり、それ自身単独では複製能を持たないためCMVが感染しない限り何の作用も示さないと考えられる。また、CMVが感染しても、増殖するのは、すでに自然界に存在す

るRNAであり、人間が食べる野菜などに含まれているものである。ただし、感染後はCMVとともに他の植物に伝染する可能性もあるので、さまざまな植物に対するT73-sat RNAの影響を調査しなければならない。

今後は、タバコ以外の植物にこの遺伝子を導入する実験を行うとともに、耐性の程度について詳細に検討する必要がある。CMVについては、他に耐性遺伝子がないので、必ずしも完全な耐性でなくとも実用的な意義はあるが、耐性程度は高い方がよいのは当然である。そのためにも、大規模な栽培試験を早期に実施する必要があるが、組換え植物であるので、一步一步慎重に研究を進めていきたい。

文 献

- 1) Masuta, C., T. Komari and Y. Takanami (1989) *Ann. Phytopa. Soc. Japan*, 55: 49-55
- 2) 高浪洋一(1987) ウイルス 37: 81-88
- 3) Harrison, B. D., M. A. Mayo and D. C. Baulcombe (1987) *Nature* 328: 799-802
- 4) Masuta, C. and Y. Takanami (1989) *Plant Cell* 1: 1165-1173

国内情報

胚培養を利用したユリの新品種育成

島根県農業試験場 生物工学科

春木 和久

1. はじめに

ユリは、近年需要が順調に伸びている花きのなかで特に注目を集めている作物のひとつである。また、最近品種改良が積極的に行なわれるようになり、新しく作出されたスターガザール、ルレーブ、カサブランカ等は市場で高値で取引されている。これらオリエンタルハイブリッド系の品種は大輪で美しく、切り花としての需要が多いが、増殖には栄養体

が用いられ、球根養成が必要になるので球根の価格が高い。そのため農家が有望な品目として新たに栽培を計画しても多くの資金が必要となり、実際に栽培している農家はごく限られている。

これに対して、実生繁殖が可能で、播種後約1年で開花し、球根養成の必要のないユリにシンテッポウユリがある。シンテッポウユリはテッポウユリとタカサゴユリを交雑し、タカサゴユリの1年開花性を導入したもので、切り花の生産のための種苗費が少なくすむ

とから現在広く普及している。しかし、花色、花型が1種類で、オリエンタルハイブリッド系の品種のような多様性がなく、需要にも限界が感じられる。特に新興産地で栽培面積を拡大する場合や、新たに産地を形成する際には、既存産地に対抗するために特徴のある新品種の育成が必要となっている。

しかし、ユリ属内では交配可能な組合せが限られており、新品種育成を新しい組み合わせで行うためには、バイオテクノロジーの手法が必要となる。バイオテクノロジーを利用したユリの品種改良は、農林水産省野菜・茶業試験場、北海道大学、公立試験研究機関(岡山県、新潟県等)、その他種苗業者において取り組まれており、胚培養による異種間交雑についてはすでに実用段階の技術となっている。島根農試では、昭和63年度から、シンテッポウユリをもとにした品種改良に取り組んでおり、今回、胚培養を用いた異種間交雑によってシンテッポウユリにはない花色の交雑種が得られたので紹介する。

2. 交配および胚培養の方法

育種目標は次の2点を取り上げた。

- ① 実生繁殖が可能で、播種後短期間(できれば翌年)で開花する。実生繁殖可能な固定種にするのが望ましいが、実生繁殖が利用できない場合でも、組織培養により増殖可能で、馴化後球根養成をしなくても短期間(半年~1年)で開花する性質をもつ。
- ② オリエンタルハイブリッド系品種のようにさまざまな花色、花型がある。

以上の目標を実現するために、交配親として、短期間で開花する性質の導入を目的として、母株にシンテッポウユリを用いた。花粉親としては、カノコユリ(紅鹿の子)、スターガザールを用いた。花柱切断受粉法によって交配し、交配後約50日で未熟胚を摘出して胚培養を行った。MS培地を用い、25℃16時間照明(3,000 lx) 8時間暗黒条件で培養した。

シンテッポウユリ×カノコユリの組合せでは8月上旬に2個の子房について交配を行い、

そのうち1個が肥大した。この子房から9月下旬に1~2mmの未熟胚を20個取出すことができ、それらをすべて培養した。そのうち13個が生育し、約3か月後には小球根になった。シンテッポウユリ×スターガザールの組合せでは7月中旬に3個の子房について交配し、そのうち1個が肥大して9月上旬に1~2mmの未熟胚を4個摘出することができた。培養を開始して約3か月後には、そのうち3個から小球根が形成された。

3. 交雑個体の栽培と特徴

未熟胚から形成された小球根は翌年の3月下旬にガラス室内で馴化し、5月上旬に植木鉢に定植した。交雑個体のうちシンテッポウユリ×カノコユリの組合せでは6個体が7月上旬頃から抽苔し、5個体が8月下旬~10月上旬にかけて開花した。開花した個体のうち3個体はシンテッポウユリと外観上同じ花であったが、他の2個体はシンテッポウユリとカノコユリの中間の形態を示した(系統名をSK-1, SK-2とした)。

SK-1は9月中旬に開花した。花被は中央が赤色で縁は太い白覆輪になっており、花の中心部にカノコユリにみられるような乳頭状の突起がわずかにみられた。花は横向きかあるいはやや下向きに咲き、直径約20cmの大輪で、花被の先端がやや反捲し、花被数は6枚であった。また、正常な花粉はほとんど形成されず、開葯は起こらなかった。花被の基部は弱く、開花後2日程度たつと花型が乱れるようになった。葉は長楕円形、無柄で斜生し、シンテッポウユリと似ていたが、濃緑色で光沢があった。葉序は1/4であった。蕾の基部、葉身、茎等を用いて組織培養をしたところ、比較的容易に植物体を再生させることができたので、大量増殖は可能であると考えられる。また、胚培養を開始してから約1年で開花したので、組織培養で再生した苗も短期間で開花することが期待される。

SK-2は10月上旬に開花し、SK-1とよく似た花で、直径約16cm、花色はややうすかった。葉はSK-1より細く長かった。開花2日

目頃に開葯し、わずかに花粉が見られた。

4. 問題点と今後の課題

以上のように、新しい交雑種によって、シンテッポウユリに早期開花性を残したまま、新しい花色と花型を導入するという当初の育種目標の第1段階はほぼ実現することができた。シンテッポウユリとカノコユリという花型の大きく異なる種を交雑したため、花型はそれらの中間型となった。花は大輪のものが得られたが、花被（特に花被の基部）がやや弱く、開花後数日たつと花姿がみだれやすかった。花色は花粉親に用いたカノコユリほど鮮やかではなく、ややくすんだ色あいとなった。さらに、花被の外側はほとんど着色せず、

わずかに紫紅色のすじがみられ、開花前から淡赤色に着色するカノコユリとは異なったものであった。

また、花粉の形成が悪く交配親として使えないので、これらの形質を改良するためには染色体の倍化等の方法によって稔性を回復させる必要がある。コルヒチン処理などで稔性が回復すれば、さらにカノコユリ、オリエンタルハイブリッド系の交雑種を交配して、短期開花性の性質を残したまま、オリエンタルハイブリッド系のユリの花型を取り入れることも可能になると考えられる。

現在、圃場での栽培の適応性については検討中であるが、以上のような点を考慮して、さらに改良を続けて行きたいと考えている。

国内情報

凍結保存胚由来の子豚生産

農林水産省畜産試験場 生殖細胞移植研究室

小栗 紀彦

はじめに

豚の胚移植の最初の成功例は、1951年ソ連のKvasnickii¹⁾によって報告された。その後1960年代には手術による胚移植の術式がほぼ確立され、妊娠初期の諸現象の解明手段として利用されていた^{2,3,4,5,6,7)}が、多産で妊娠期間が比較的短い豚では胚移植技術の実用的応用場面は少ないと考えられており、この分野の研究は牛における程には活発に行われていなかった。さらに、豚胚は低温感作を受けやすく、+15℃より低い温度に曝されるとその生存性が失われるとされていた^{8,9,10)}ので、胚の凍結保存に関する研究もほとんど行われておらず、その成功例は勿論報告されていなかった。

我々の研究室では、豚胚の凍結保存に関す

る研究を実施するために、1983年夏に豚の胚移植に関する仕事を始めた。胚移植技術による清浄豚群の作出に関する研究と並行して、予備的に、他動物種で成功例が得られている凍結・融解条件での豚胚の凍結保存を試みた。融解後の胚はことごとく生存性を失っていた。生存性を喪失する条件を明確にするため、-5℃まで冷却した豚胚の生存性を培養で検討したところ、条件によってはその半数が生存性を示すことが判明した¹¹⁾。その後、凍結・融解条件を種々検討しながら仕事を進めた結果、1989年6月19日に、液体窒素（-196℃）中で、凍結保存した胚より発育した子豚を1頭作出するのに成功した。凍結・融解胚由来の世界で最初の子豚は雄だったので、凍太郎と名付けることにした。

1. 豚胚の凍結保存に関する研究の展開

前述したように豚胚は低温感作を受け易いことが強調されていたが、相馬らによって -5°C まで冷却された豚胚の生存性が培養で証明された¹¹⁾後、数グループの日本の研究者が活発に研究を進め、 $+11^{\circ}\text{C}$ まで冷却された豚胚から発育した生存胎児¹²⁾、 -35°C まで冷却された胚より発育した子豚¹³⁾が報告され、現在に至っている。

2. 「凍太郎」作出の条件

1) 用いた媒液の調製法

I液：胚採取のための灌流液

Ca イオン、Mg イオンを含まないダルベッコのリン酸緩衝液に、 $1\text{ mg}/1\text{ ml}$ の濃度で牛血清アルブミンを添加する。

II液：凍結媒液

Ca イオン、Mg イオンを含まないダルベッコのリン酸緩衝液、牛胎児血清ならびに鶏卵黄をそれぞれ3容、5容、1容の割合で混合し、これを1分間3,000回転で30分間遠心する。この上澄9容にグリセロール1容を加える。

III液：耐凍剤の希釈液

Ca イオン、Mg イオンを含まないダルベッコのリン酸緩衝液8容と牛胎児血清2容との混合液19容と鶏卵黄1容とを混合し、これを3,000回転で30分間遠心する。この上澄に対し、 0.5 M 濃度となるように蔗糖を加える。

IV液：胚の移植用媒液

Ca イオン、Mg イオンを含まないダルベッコのリン酸緩衝液に、20%の割合で牛胎児血清を加える。

なお、用いた全ての媒液には抗生剤が添加してある。

2) 供試胚

雄許容後、7日目の梅山豚から外科的に採取した形態的に良好な脱出胚盤胞を用いた。

3) 凍結前処置

I液中から回収した胚をIV液で洗浄し、耐凍剤の平衡まで、IV液を充填した5 ml試験管

内で、 37°C に保った。

4) 耐凍剤の平衡

胚をペトリ皿中のII液に移した後、直ちにII液とともに 0.25 ml プラスチックストローに封入し、冷却開始まで30分間 26°C に静置した。

5) 冷却様式

26°C から -7°C まで、分速 1°C で冷却し、 -7°C で10分間保持した。 -7°C から -36°C まで、分速 0.3°C で冷却した後、液体窒素に浸漬した。

6) 植氷方法

固定化ヨウ化銀法¹⁴⁾によって行った。

7) 融解方法

液体窒素から取り出したストローを 37°C の温水に15秒間浸漬した。

8) 耐凍剤の希釈

融解したII液とともにストローからペトリ皿に出した胚を、新たなII液に移し、これを新しい 0.25 ml プラスチックストローに、III液7 cm、空気0.5 cm、胚を含んだII液1 cmの順に吸引充填して、ストロー両端を封じた。体温計を振る要領で、II、III液を混和し、ストローを水平に5分間静置した。胚をストローから出し、ペトリ皿中4 mlのIII液に移して、5分間放置した後、IV液で洗浄し、移植までIV液中で 37°C に保った。なお、耐凍剤の希釈操作は $25\sim 27^{\circ}\text{C}$ に保たれた実験室で行った。

9) 胚移植

凍結・融解した梅山豚の胚8個と人工授精後7日目の交雑種(大ヨークシャー種×ランドレース種)から採取した形態的に良好な新鮮脱出胚盤胞4個との計12個を雄許容開始後5日目の受胚豚(ランドレース種)の子宮角に外科的に移植した。

3. 子豚の誕生

1989年6月19日、凍結・融解胚由来の子豚1頭(黒色、雄、体重 1.1 kg)および新鮮胚由来の子豚2頭(白色、雌、体重 1.3 kg 、 0.9 kg)が誕生した(表紙参照)。

4. 凍太郎作出条件の要点

凍結・融解胚由来の子豚が1頭生産されただけの段階で、成功の原因を云々することはできないが、我々は以下の点の関与を推察しており、個々要因の検討を進めている。

1) 脱出胚盤胞の供試

我々の実験では透明帯のある胚盤胞より脱出胚盤胞の方が耐凍性が高い¹⁵⁾。

2) 卵黄の使用

精子の凍結保存におけると同様にリポタンパク質、レシチン等の保護効果が考えられる。

3) 牛胎児血清の濃度

高濃度の血清は血清の保護効果の増大とともに凍結媒液中のリン酸イオン濃度の減少も意味する。

4) Ca イオン、Mg イオンを含まない凍結基礎媒液

理由は考えにくいだが、この条件で子豚が生産された。

5) 固定化ヨウ化銀法による植氷

氷晶形成開始部位と胚との距離を他の植氷方法より短くすることができる点に関与したかも知れない。

6) ストロウの水平保持によるグリセロールの希釈

無段階に近い状態でグリセロールが希釈された可能性があり、これが好結果をもたらしたかも知れない。胚の比重、形状によりストロー内での胚の動きに斉一性がない点が問題である。段階的希釈が良いかも知れない。

7) 新鮮胚の補足移植

豚は妊娠初期に子宮内の生存胚数が少ない場合、妊娠が中断することが報告されており^{16,17)}、妊娠の継続には3個以上の生存胚が必要である¹⁸⁾。

今回実施した「新鮮胚の補足移植法」は豚胚にその生存性を損なうような操作をした場合の子豚への発生能を評価する手段として有効である。

おわりに

豚胚の凍結保存が可能になると、豚における胚移植技術の利用価値は飛躍的に増大し、遺伝資源の有効な保存手段として利用できることは勿論、防疫を考慮した国家間あるいは地域間の経済的な胚の輸送、防疫効果を伴った新しい遺伝形質の閉鎖集団への導入、豚群の清浄化等の産業面における応用ばかりでなく、胚の初期発生、胚の子宮内における動態、胚死亡の発生要因、胚母胎間の相互作用等妊娠初期の諸現象の解明手段として、また、クローン動物、形質転換動物作出に関する研究の基礎技術として研究面で利用も拡大する。

豚胚の凍結保存に関する研究は凍結・融解胚由来の子豚が生産されたところであり、その緒に就いたばかりである。豚胚の凍結保存における凍害発生機序の解明、至適条件の決定等、今後の進展が期待される。本稿が参考になれば幸いである。

本稿執筆に当たり、共同研究者をここに記して深謝する。藤野幸宏(埼玉畜試)、富塚常夫(農水省畜試)、小島敏之(農水省畜試)、遠藤健治(森永乳業)。

文 献

- 1) Kvasnickii, A.V.(1951) *Sovetsk. Zooteh.* 1: 36
- 2) Pomeroy, R.W.(1960) *J. Agr. Sci.* 54: 31
- 3) Hancock, J. L. and G. J. R. Hovell (1962) *J. Reprod. Fert.* 4: 195
- 4) Dziuk, P. J., C. Polge and L. E. A. Rowson (1964) *J. Anim. Sci.* 23: 37
- 5) Vincent, C. K., O. W. Robinson and L. C. Ulberg (1964) *J. Anim. Sci.* 23: 1084
- 6) Polge, C.(1966) *Wld. Rev. Anim. Prod.* 4: 79
- 7) Hunter, R. H. F., C. Polge and L. E. A. Rowson (1967) *J. Reprod. Fert.* 14: 501
- 8) Wilmut, I.(1972) *J. Reprod. Fert.* 31: 513
- 9) Polge, C., I. Wilmut and L. E. A. Rowson (1974) *Cryobiology* 11: 560
- 10) Niemann, H.(1985) *Theriogenology* 23: 213
- 11) 相馬正・小島敏之・小栗紀彦(1987) 日畜会報, 79回大会講演要旨, p. 28
- 12) Nagashima, H., Y. Kato, H. Yamakawa and

- S. Ogawa (1988) *Jpn. J. Anim. Reprod.* 34 : 123
- 13) Hayashi, S., K. Kobayashi, J. Mizuno, K. Saitoh and S. Hirano (1989) *Vet. Rec.* 125 : 43
- 14) Kojima, T., N. Oguri, K. Shimada and H. Souzu (1988) *Cryo-Letters* 9 : 348
- 15) 藤野幸彦・富塚常夫・小島敏之・遠藤健治・小栗紀彦 (1989) 日畜会報, 82回大会講演要旨, p.114
- 16) Polge, C., L. E. A. Rowson and M. C. Chang (1966) *J. Reprod. Fert.* 12 : 395
- 17) Polge, C., R. M. Moor, B. N. Day, W. D. Booth and L. E. A. Rowson (1966) *J. Anim. Sci.* 26 : 1499
- 18) 小栗紀彦・小野寺道寛・藤野幸彦・遠藤健治・小島敏之・富塚常夫 (1989) 日畜会報, 82回大会講演要旨, p.112



文献情報

形質転換植物に抗体を
作らせる

抗体分子はそれぞれ2本の Heavy, Light chain で構成され、これらが S-S 結合で集合してはじめて抗体として機能する。脊椎動物特有のものである抗体を、Heavy, Light chain に対応する遺伝子を別々にタバコに導入し、それらを交配して共存させることによって、植物体で生産させることに成功したという画期的な報告がなされた。このレポートが収められた Nature の表紙にはタバコ植物の上で戯れるネズミの写真が用いられ、多くを物語っている。

この報告では、低分子のリン酸エステル (P3) に結合し、カルボン酸エステルの加水分解を触媒する 6D4 という抗体を用いている。6D4 を生産するマウスのハイブリドーマ細胞より mRNA を抽出した後、cDNA を合成した。ガンマ鎖 (Heavy) およびカッパ鎖 (Light) それぞれについてリーダー配列を含むもの、欠くものの、合計4種類の遺伝子を、植物発現用ベクターに組み込み、アグロバクテリウムを用いて、タバコの葉片に導入して、形質転換体を得た。

これらの形質転換体でガンマ、あるいはカッパ鎖の分子が作られているかを確認するため、葉からタンパクを抽出し、ヤギの抗マウス Heavy あるいは Light chain 抗体を用いた ELISA 法による検出を行った。その結果、リーダー配列を含む Heavy あるいは Light chain を導入された個体では、高いレベルでそれぞれのタンパクが生産されていた。しかし、リーダー配列を欠く遺伝子を導入した個体では低いレベルの発現にとどまった。なお、Northern Blot の結果によると、mRNA の転写のレベルは、リーダー配列の有無にかかわらず、ほぼ、一定であった。

つぎに、ガンマ、カッパ鎖を生産している形質転換体間で交配を行って得た F₁ 植物体

で、果たして、ガンマ、カッパ鎖の両タンパクが集合するかという点について ELISA 法で検討した。原理的には、葉からの抽出液について、抗ガンマおよび抗カッパ抗体と同時に反応する分子 (すなわち、集合した抗体分子) の検出を行った。その結果、リーダー配列を持つ遺伝子の場合、ほとんどすべての F₁ 個体でガンマ、カッパ鎖の集合が認められた (集合率: 95+16%)。しかし、リーダー配列を含まない場合は、両鎖の集合は見られなかった。抗マウスの全 IgG 抗体を用いた Western Blot においても ELISA の結果と同様に、リーダー配列を含む場合にのみ、両鎖の集合が見られた。このように、リーダー配列の存在はそれぞれの鎖分子の増加をもたらしたが、これはリーダー配列の存在が mRNA の翻訳効率を高めたためか、あるいは細胞内小器官への輸送の結果として抗体分子の安定性を高めたためなどが考えられる。

F₁ 植物内で集合した抗体が抗原と反応するかという重要な点について、P3-B SA 複合体を抗原として、ELISA 法により調べた。F₁ 植物由来の抗体は、対照のハイブリドーマ由来 6D4 抗体と同様に、P3-B SA と結合し、この結合は P3 と前もって反応させることによって阻害された。このことは、P3-B SA との結合は P3 特異的であることを示すものである。さらに、遊離の P3 に対する結合についても、F₁ 植物体由来・ハイブリドーマ由来は同様であり、両者の Half maximal inhibition 値は 1 μmol/l を示した。

このように、ガンマ、カッパ鎖遺伝子を個別に導入した個体を交配することによって、これら両鎖が集合し、植物体内で抗体として機能することが明らかとなった。酵母やバクテリアでは一つのベクターに Heavy, Light 遺伝子を組込んだ方法、あるいは2回の形質転換で抗体を作らせることに成功している。この報告で試みた交配による方法は上の方法に代る有効なものと考えられる。

最後に、この研究の応用の一つの可能性として、種々の生理活性物質に対する抗体の遺伝子を利用し、植物体でこれらの物質と抗体分子を結合させることにより、生理活性物質

の量的制御, 細胞内での隔離, あるいは回収などが考えられるとしている。このレポートは植物体で抗体を作らせたという初めての報告であり, 著者が指摘した可能性以外にもさまざまな応用が考えられる。今後, さらに, この分野での研究が待たれる。

(抄訳: 斎藤靖人—日本たばこ)

Production of antibodies in transgenic plants

Andrew Hiatt, Robert Cafferkey and Katherine Bowdis

Nature · 342 : 76-78 (1989)

文献情報

傷感染性病原糸状菌への
クチナーゼ遺伝子の挿入
—それによって無傷植物
への感染が可能—

植物病原細菌やウイルスの分子生物学的研究は, 近年急速な進展をみせているが, 病原糸状菌の場合は, 分子生物学の研究材料としては, 不利な条件が多く, 研究が遅れていた。しかしながら, 最近になって, 病原性に関連する遺伝子が単離されたり, 遺伝子導入に不可欠な形質転換の系が一部の菌種で確立されるなど, ようやく, 糸状菌の病原性遺伝子の研究の幕開けの時代に入ってきた。ここで紹介する論文はこのような背景のもとで行われたものであり, 病原性遺伝子として重要なクチナーゼ遺伝子を形質転換によりこれを持たない菌に導入し, 発現させるという画期的なものである。

植物の表層はワックスとそれに埋没した形のクチンからなっている。病原菌はこのクチンを分解し, 内部組織に侵入するが, そのためには, このクチンを分解する酵素, クチナーゼが必要となる。この研究の材料として用いられた, *Mycosphaerella* spp. は, このクチナーゼ遺伝子をもたない。したがって, 無傷のパパイヤの表層からは侵入できず, ただ, 傷口のある場合にだけ, そこから侵入し病気を

を起こすことができる。もし本菌にクチナーゼ遺伝子を導入してやれば, 無傷のパパイヤにも病原性を示すはずである。そこでつぎのような実験が行われた。

クチナーゼ遺伝子は, *Fusarium solani* f. sp. *pisii* から単離したものをを用い, それをベクタープラスミドにつないで供試した。この組換えプラスミド pU 5-11 は, クチナーゼ遺伝子の構造遺伝子と 5' 末端上流 4 kb と 3' 末端下流 1 kb の断片をも含む。pU 5-11 とそれとは別のハイグロマイシン耐性マーカーをもつプラスミドを同時に *Mycosphaerella* spp. の細胞に形質転換 (co-transformation) する。形質転換の方法は, すでに *Aspergillus* の系で確立されているリチウム・アセテート処理によった。形質転換体は, ハイグロマイシン耐性細胞によって, 第一次選択し, それらの中から共に導入された (co-transformation) クチナーゼ遺伝子を保持するクローンを選択・プロットにより釣りだした。このようにして, 4 株の形質転換体 (M12, M21, M25, M101) が得られた。これらクローンのゲノム DNA 中には, 野生型にはないクチナーゼ遺伝子とハイブリッドする DNA の存在が確認された。挿入部位はランダムであり, 2 か所に挿入されていると考えられる株もあった。

つぎに, *Fusarium solani* f. sp. *pisii* で観察されるクチナーゼ遺伝子のクチン・モノマー (クチン加水分解物) による発現誘導がこれら形質転換体でも起こるか否かを転写レベルで調べた。プローブには放射線ラベルしたクチナーゼ cDNA を用い mRNA とハイブリッドするかどうかを調べた。野生型では誘導処理 48 時間後でも全く検出されなかったが, 形質転換体 M12, M21 からは, *Fusarium* クチナーゼ mRNA のサイズと類似する転写物を検出することができた。M25 と M101 からは, プロセッシングやプライミングが異なるためなのか, そのほかのサイズの転写物も検出された。いずれにしても, クチン・モノマーによる誘導が転写レベルで明瞭に観察された。なお, 誘導処理をしないときには, わずかな恒常的な発現がみられた。

つぎに, これら転写物が十分に翻訳 (tra-

nslation)されるかどうかを調べた。クチナーゼ遺伝子に対して作られた抗体をプローブとしたウエスタンブロット解析によって検討された。野生型は、誘導処理72時間後でも全く検出されなかったが、四つのすべての形質転換体は、72時間以内に明らかにクチナーゼを生産した。ただし、菌株によって、生産量に大きな差異があった。これらの酵素が活性をもつことは、*Fusarium* クチナーゼに対する抗体との交叉反応により確認された。クチナーゼ活性の程度は、免疫ブロット解析によって検出されたタンパクの量のレベルと一致し、M101が最も高い活性を示し、以下M25, M21, M12と続いた。

さらに、パパイヤへの接種試験を行った。有傷接種では、当然、野生型も形質転換体のいずれも病原性を示したが、無傷接種では、形質転換体のみが病原性を示した。とくにM101株は強い病原性を示し、その病徴は、パパイヤの真の病原菌である *Colletotrichum gloeosporioides* によって引き起こされるものと本質的に変わらないものであった。さらに、この病徴発現がクチナーゼに起因するものであることは、クチナーゼ抗血清処理による病徴発現の抑制効果により明らかであった。

以上のように、傷のある組織にしか感染できない糸状菌にクチナーゼ遺伝子を導入することにより、無傷の植物をも感染させることが可能になった。著者らは、これら基礎研究が、将来、たとえば病原性遺伝子の発現の制御による病害防除等の応用研究に発展することも期待されると結んでいる。

(抄訳：佐藤 守一農環研)

Insertion of cutinase gene into a wound pathogen enables it to infect intact host

Dickman, M. B., G. K. Podila and P. E. Kolattukudy

Nature 342: 446-448 (1989)

文献情報

植物ミトコンドリアにおけるRNAのエディティング (編集)

RNAのエディティングとは、鋳型となるDNAの塩基配列と異なる塩基配列をもつメッセンジャーRNAを生じさせる現象を意味する。ただし、スプライシングによるイントロンの除去については、この定義に含まれていない。この現象は、DNAの遺伝情報は忠実に転写・翻訳されるという従来の概念をくつがえすものであり、これまでに鞭毛虫のミトコンドリアのメッセンジャーRNAでのU残基の挿入や欠失が起こる例、動物のアポリポプロテインB遺伝子におけるメッセンジャーRNAでのC残基のU残基へのおきかえの例、および、はしかウイルスの転写産物へのG残基の付加される例が明らかにされている。今回二つの異なる研究グループにより、植物においてもミトコンドリア遺伝子の正確な情報発現のために、RNAエディティングが必要であることが明らかにされた。

これまでに、DNA塩基配列の決定とその比較から、他の生物で高度に保存されているミトコンドリア遺伝子(例えば *nad3*, *rps 12*, *cox III* など)のトリプトファンをコードするUGGコドンが、植物ミトコンドリア遺伝子では、しばしばアルギニンをコードするCGGにおきかわっていることが明らかにされてきた。しかしUGGをアンチコドンにもつtRNA^{Trp}は見つかっているもののCGGをアンチコドンにもつtRNA^{Trp}がこれまでに見つかっていないこと、金属原子との結合に関与している極めて重要な部位でアミノ酸の置換が起きていること、さらに植物ミトコンドリアRNAの塩基配列がこれまで決定されていないことなどから、CGGがトリプトファンをコードしていることなどは疑問の残るところであった。

そこで著者らは、ミトコンドリアRNA全体を基質に用い、特異的なオリゴヌクレオチ

ドをプライマーとしてRNAに相補的なDNAを合成し、その塩基配列の決定を行った。その結果 *rps 12* や *cox III* 遺伝子では、さまざまな生物の間で保存されているアルギニン残基の塩基配列はCGGのままであるのに対し、トリプトファンとして保存されている位置に存在するCGGは、メッセンジャーRNAの配列ではUGGにおきかえられていた。同様の手法を用いてDNAとRNAの塩基配列を比較したところ、*cox II* 遺伝子で認められる三つのCGGコドンと *cob* 遺伝子で認められる二つのCGGコドンがメッセンジャーRNAではUGGにおきかわっていることが明らかとなった。つまりDNAにおけるCGGコドンが、メッセンジャーRNAでは選択的にUGGに変えられ、最終的に翻訳段階でトリプトファンが生じていることが推察されている。さらにミトコンドリアメッセンジャーRNAの塩基配列とゲノムの塩基配列との相違点を解析したところ、それらはすべてC残基のU残基へのおきかえであり、それによって生じるコドンの変化は、対応するアミノ酸をさまざまに変化させていることも明らかになった。そしてエディティングされたRNAから予想される植物ミトコンドリアタンパク質のアミノ酸配列は、さまざまな生物で保存されているアミノ酸配列に、より相同性の高いものであった。興味深いことに、タンパク質をコードしていない5'側非翻訳領域においてもRNAエディティングがおこなわれていることが示された。植物のミトコンドリアDNAは、相同配列を介した組換えにより生じる、複数の環状DNA分子により構成されていることが明らかにされている。そのため非常に微量に存在するCGGでなくTGGからなるDNA分子から、選択的にRNAが転写されているのではないかという可能性もあった。しかしこのことは、ポリメレースチェーンリアクション法（微量DNAを特異的に増幅させる方法）によりそのようなDNA分子の存在が認められなかったことから否定された。また、これまでの結果から、植物ミトコンドリアではRNAレベルで、普遍的遺伝暗号が使用されていることも示唆されてい

る。

植物ミトコンドリアにおけるRNAエディティングは、遺伝子レベルでの塩基配列の多様性に対し、メッセンジャーRNAの段階で遺伝子の情報を維持し、その結果植物ミトコンドリアのタンパク質シーケンスの保存に寄与しているものと考えられている。ミトコンドリアDNAにコードされているCGGがアルギニンをコードしているのかトリプトファンをコードしているのかなどということは、RNAエディティングが起こるか否かに依存しているので、DNAの塩基配列からは直接、最終産物であるアミノ酸配列を予想することは現在のところ困難である。遺伝子発現に重要な影響を与えているRNAエディティングについて、今後そのエディティングの選択性や反応機構などについて明らかにされる必要がある。

(抄訳：門脇光一 — 生物研)

RNA editing in plant mitochondria

Covello, P. S. and M. W. Gray

Nature 341 : 662-666 (1989)

RNA editing in wheat mitochondria results in the conservation of protein sequences

Gualberto J. M., L. Lamattina, G. Bonnard, J.H. Weil and J.M. Grienenberger

Nature 341 : 660-662 (1989)

文献情報

甲殻類の胚寄生病原真菌からの海産共生細菌による化学的な防御

微生物による二次代謝物あるいは他感物質は、それらの宿主、競争者および捕食者への影響に重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、研究室内実験から自然界での複雑な微生物の相互関係を推定することは困難であり、生態学的に関連する生物について

そのような考え方で厳密な試験は、非常に少ない。したがって、微生物の化学的生態学は多くの仮説的な部分を残しており、微生物代謝産物の自然界における機能を明らかにする新しい研究方法が必要とされている。

多くの生物は、体表に種特異のフローラを保持している限りは、病原性真菌と細菌から免れている。ときとして、表在性の微生物は競争し合う微生物を抑制する物質を産生する。共生微生物は化学的に彼らの微小な生息の場を守り、それが、彼らの宿主を病原微生物から守ることとなると考えられてきている。著者らの研究は、海産細菌により産生される抗微生物物質が、微生物の競争および宿主の生存能力に重要であることを確証した。

Palaemon macrodactylus (ユビナガスジエビ) の稚エビと幼生は、多くの甲殻類に病原性がある藻菌類真菌 *Lagenidium callinectes* に高い感受性を持つにもかかわらず、ふ化した胚は著しく真菌に耐性である。Fisher は健康な *P. macrodactylus* の胚の体表から、いくつかの細菌の株を分離した。さらに、付着している細菌をペニシリンにより取り除いた場合、胚には多様な微生物が速やかに寄生してしまうことを記している。*L. callinectes* は最も常在的で、活発な病原体の一つであり、その感染は常に宿主を死に至らしめる。健康な胚から一貫して分離されるペニシリン感受性株 (培養ナンバー: I-2, *Alteromonas* sp.) は、*in vitro* で *L. callinectes* の生育を効果的に抑制する。著者らは、この I-2 株が抗真菌物質をかなり大量に産生し、培養液中に放出することを明らかにしている。さらに著者らは、この物質を分離し、イサチンとして知られる 2,3-indolinedione と同定している。この物質は、以前から主に indigo dyes の合成中間産物であること以外に、薬物的性質を持っていることも知られている。

この細菌からの分離物質が胚を真菌から防御していること、さらに、それが 2,3-indolinedione により起こっていることを確かめるために、著者らは、以下の研究を行った。*P. macrodactylus* の胚は、20尾の雌から採取し、30尾ずつグループに分けた。3グループ

の表在菌は、ペニシリン処理し、取り除いた。その内の、第1のグループはペニシリン処理のみを行い、その後如何なる処理もしなかった。第2のグループは、純粋培養の I-2 株で再感染させた。第3のグループは、定期的に 2,3-indolinedione 溶液に浸漬した。これらのペニシリン処理した3グループは、病原性真菌 *L. callinectes* の濃い培養液で感染させた。これらと、コントロールとしての無処理グループを含めた4グループを毎日顕微鏡下で観察し、2尾あるいは3尾の典型的な胚を電子顕微鏡による観察のサンプルとした。

L. callinectes の寄生は3日目より観察された。その後は毎日、30尾の胚を、生存している、かろうじて生存している、斃死している、の三つの状態に分類した。生存個体は、ペニシリン処理のみのグループでは5%、I-2株あるいは2,3-indolinedione で処理したグループでは約60%、コントロールでは80%であった。12日目の実験終了時には、危険率0.001以下でペニシリン処理のみのグループが、他の全てのグループより有意に生存率が低かった。ペニシリン処理後に I-2 株あるいは 2,3-indolinedione で処理したグループの生存率は、コントロールと危険率0.10以上で有為な差がなかった。

この実験結果は、*P. macrodactylus* の胚に一般的に寄生している表在性の *Alteromonas* sp. I-2 株が、病原性真菌 *L. callinectes* による感染を制止できることを示している。この防御機構は抗真菌物質 2,3-indolinedione の産生と放出によるものであり、そして微生物が生産する他感物質の自然界における機能を示すものである。Glover らはヒトとラットの組織から 2,3-indolinedione を分離し、それは以前 triblin として知られていた内在性モノアミノオキシダーゼの阻害物質と確定している。彼らの結果と、著者らの記録した抗真菌物質の関係は、現時点では明らかではない。しかし、それぞれの観察は、自然現象の調節において、これまで知られていなかったイサチンの重要性を指摘した。これらの結果は、重要な生態学および進化論的意味も持ち、その重要性は、同様な生物の相互関係が

認められ、実験的に研究されたとき、より明らかなものとなるだろう。これらの観察は、水生の植物および動物が、常に病原微生物に密接に接しているため、それらに特に感染しやすいことを示唆している。したがって、共生表在細菌の存在は、淡水および海水の環境における必須な適応を意味するのであろう。

(抄訳：森田葉採—東京水産大)

Symbiotic marine bacteria chemically defend crustacean embryos from a pathogenic fungus

Gil-Turnes, M. Sofia, Mark E. Hay and William Fenical.

Science 246: 116-118

文献情報

フォトアフィニティーラベルを用いたトウモロコシのIAA結合タンパク質の同定

植物におけるオーキシンのおもな役割の一つは、硬化した細胞壁の生理学的・生化学的性質を変化させ、膨圧による細胞伸長を促すことである。オーキシンによって誘導される細胞伸長の正確な機作については未だ不明な点が多いが、おそらくオーキシンとオーキシンレセプターの複合体が関与していると思われる。最近、このレセプターと思われる一連のタンパク質(Auxin-Binding Protein; ABP)がいくつかの研究グループによつて見いだされた。

フォトアフィニティーラベルは、このようなレセプターとの同定と結合メカニズムの解明に有効な手段として注目されている。たとえば、Brinegarら(1988)は2-azido-N⁶-[¹⁴C] benzyladenineを用いて、サイトカイニン結合タンパク質を同定し、結合部位付近のヒスチジン残基が反応に強く関わっていることを明らかにした。一方、オーキシンについてもインドール-3-酢酸(IAA)のフォトアフィニティーアナグロが合成され、オーキ

シン結合部位を標識する試みがなされたが、非特異反応が強くABPの同定には至らなかった。著者らは、IAAのフォトアフィニティーアナグロである5-azidoindole-3-acetic acid(5-N₃IAA)を用い、結合するタンパク質を直接標識する方法によつてトウモロコシの二つのABPを同定することに成功した。

暗黒下で発芽させたトウモロコシ幼葉鞘の膜タンパク質をアセトンで抽出し、陰イオン交換とサイズ排除クロマトグラフィーによつてIAA結合活性の高い画分を濃縮した。この精製操作は、非特異反応を減少させるためにきわめて効果的であった。この試料に暗黒下で5-N₃[³H]IAAを混合した後、15秒間光照射することによつてフォトアフィニティーラベルをした。それをSDS-PAGE/フルオログラフィーによつて分析したところ、分子量22kDaと24kDaのペプチドだけが強くラベルされた。ところが同試料を未変性条件下でサイズ排除クロマトグラフィーにかけると、分子量約40~50kDaの画分に放射能が検出された。そこでこの画分をSDS-PAGEで分離し、フルオログラフィーと抗22kDaサブユニットABPを用いたイムノブロットを行なったところ、分子量22kDaと24kDaのABPsは未変性条件下でそれぞれ分子量43kDaと50kDaの挙動を示すことを認めた。更に、10mM2-メルカプトエタノールを含む緩衝液中でサイズ排除クロマトグラフィーを行なってもABPsの溶出パターンは変わらないことから、この二つのABPsは二量体であり、ジスルフィド結合は二量体コンフォメーションの維持には関与していないことを示唆した。つづいて等電気泳動によつてABPsの等電点を調べたところ、pH5.0~5.3の間に二つの放射能ピークが認められ、イムノブロットによつてABPsであると確認された。

これらABPsは細胞生理学的にどのような役割をもっているのだろうか? Löbler & Klämbt(1985)はオーキシンによつて誘導される細胞伸長がABP抗体によつて阻害されることを示した。また最近、Barbier-Brygooら(1989)はタバコプロトプラスにおいて、ABP抗体がNAAによつて誘導される原形

質膜の過分極を阻害することを明らかにした。Hicksら(1989)はフォトアフィニティーラベルを用いて、42kDaのABPを同定し、これが原形質膜に局在することから、オーキシンの輸送に関与している可能性を示唆した。このように細胞伸長を誘導するオーキシンの作用機作は、そのレセプターであるABPの同定を糸口として解明されつつある。

(抄訳：中村茂雄—宮城県植物バイオ館)

Photoaffinity labeling of indole-3-acetic acid-binding proteins in maize

Alan M. Jones and Michael A. Venis.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 6153-6156 (1989)

文献情報

植物プランクトンによる一次生産量の変動と温帯性海産魚類の着底数の変化

海産無脊椎動物や魚類の幼生の着底数は、毎年大きく変動し、成体群の構成に影響をおよぼす。その原因は、幼生の分布と生残率を決定する周囲の環境因子が変化することであるとされている。本研究で著者らは、温帯性魚類の着底数は、植物プランクトンによる一次生産量の変動に続いて変化することを明らかにし、それらの間の時間的隔たりから、幼生の着底数が、利用できる餌料の量によって決定されるという「臨界周期」仮説を支持した。また、短期間に起こる大きな一次生産量の変動は、多くの海洋生物の着底数の時間的変動に影響するのではないかと考えた。

調査したのは、オーストラリア南岸の岩礁域に多く見られる胎生の磯魚 *Heteroclinus* sp. でその分娩期は、10月から12月末まで続く。幼生は、誕生後、活発に泳ぎ、機能的な顎、眼を有し、卵黄嚢と開いた消化管を持たず、標準体長は、7.1~9.4mmである。この浮遊幼生期間は、3~6週間と季節によって異なる。そのあと、幼生は、わずかに色付き、

標準体長、14~16mmの稚魚として着底する。著者らは、タスマニア南東のストーム湾沿岸において、本種の着底する個体数を1985年から3年間にわたって、2週間毎に測定し、同じ期間にストーム湾中心付近の植物プランクトン量をクロロフィル量を指標として測定した。

新しく着底した *Heteroclinus* sp. の数は、年毎に大きく異なり、その時間的変動の型も異なった。1985年から1986年にかけては、長期間続く大きなピークが見られ、1986年から1987年にかけては着底がほとんど見られない数週間で区切られる2度の小さなピークが見られた。1987年から1988年にかけては、後半に着底が続き、約5週間の間隔を隔てたピークが見られた。

それぞれの年の着底数の変化の時間的な型は数週間前のクロロフィル量の時間的変動の型と一致していた。3年間にわたって、着底数のすべての主要なピークは、それと対応した7~9週間前のクロロフィル量のピークと一致していた。すなわち、クロロフィル量のピークに続いて着底数のピークが生じた。着底した個体数と先行するクロロフィル量との間のスピーマン順位係数を、それらのピークの間隔を考慮したうえで、3年間のそれぞれについて計算したところ、両者の高い相関関係が明らかになった。しかし、年級強度(1年間の着底した個体数の合計)と1年間のクロロフィル量の総計との間の相関関係は、認められなかった。

Heteroclinus sp. 幼生の生後5日未満の消化管内の内容物は、ほとんど微細なコペポダや同じ大きさの微小プランクトンであり、この微小プランクトンの量は、植物プランクトン量のピークの1~4週間後にピークに達することが明らかにされている。また、幼生が浮遊状態にある期間は、季節によって異なるが、3.5~6週間で、平均すると4週間である。つまり、クロロフィル量のピークと微小プランクトンのピークとの間隔とこの魚が浮遊幼生期にある期間の合計は、4.5~9週間、平均は、6~7週間である。このことは、クロロフィル量のピークと着底数のピ

ークとの間隔が6～8週間で平均が7週間であることと対応している。

一次生産量と着底数の時間的変動は、他の環境因子の変化と無関係ではありえない。ストーム湾におけるクロロフィル量のピークは、強風が湾内の海水を攪拌することによって栄養塩の増加した3週間後に生じる。すなわち、クロロフィル量のピークの原因となる現象は、平均で10週間着底数のピークより早く起こり、幼生が産まれる5週間前である。したがって、もし強風が直接的に着底数の変化を決定するならば、成熟して雌が影響をうけなければならないが、それは、不可能である。ほかにも幼生の移動に対する風の影響が考えられるが、クロロフィル量と着底数のピークの間時間的隔たりが観察されることと矛盾している。また、ストーム湾内の海水の流れは、安定していて、着底数の大きな変動を引き起こす大規模な変化は起こりえない。

室内実験の結果もまた、幼生が摂食する餌料量の短期間の変動が一次生産量と着底数との間の関係に直接影響するという仮説を支持している。実験室内で生まれた *Heteroclinus* 幼生は、摂食せず、ほとんどが誕生後12時間以内に餓死した。この餓死は、卵黄嚢をもたないことに起因することが明らかにされている。それに対して、野外から採取した誕生後

12時間以上が経過した幼生は、同一条件下で容易に摂食し、変態した。もし、幼生の摂食が誕生後すぐに必要であれば、実験の結果と幼生が卵黄嚢をもたないことから、短期間の微小プランクトン量の変動が、誕生24時間後の生残率に影響することが可能であると考えられ、臨界周期仮説によって、個体群の増加量の変動を説明できることが示唆される。

海洋において、短期間に起こる一時的な栄養塩の増加とそれに続く一次生産量の増加は、潮流や海流の変化などの海洋学的特性が変化することによって生じる。この変化は、海洋における生物地球化学的物質循環や生産力を理解するための重要な意義を持つことが近年、示唆されている。筆者らの結果は、これらの短期間の現象が、海洋生物の着底数の著しい時間的な変動の原因であり、海洋生物の群生生態学に対して、大きな影響力をもつことの可能性を示唆している。

(抄訳：林 至宏—東京水産大)

Phytoplankton production pulses and episodic settlement of a temperate marine fish

Thresher, R. E., G. P. Harris, J. S. Gunn and L. A. Clementson.

Nature 341: 641-643 (1989)



国際学会レポート

第11回国際カンキツウイルス学者会議に参加して

農林水産省 果樹試験場 安芸津支場 病害研究室

今田 準

第11回国際カンキツウイルス学者会議が1989年10月24日から11月17日にかけてフロリダおよびカリフォルニアで開かれた。大会は本会議（11月6～10日：フロリダ）、研究講習会（10月24～28日：フロリダ）、現地見学（11月2～4日：フロリダ、11月13～17日：カリフォルニア）からなっており、筆者は科学技術振興調査費による海外派遣研究員として本会議と11月2～4日の現地見学とに出席した。参加者は約150名程度で、わが国からは果樹試験場興津支場病害研究室小泉室長、同研究室加納主任研究官と筆者の3名であった。国際カンキツウイルス学者会議（International Organization of Citrus Virologists, IOCV）は1957年にカリフォルニア大学 Citrus Experiment Station の50周年記念祭が開かれたとき、一つのセッションとしてカンキツウイルス病に関するシンポジウムがもたれた。そのとき、国際的な協力によってカンキツウイルス病の研究をより推進するために、これを以後恒久的な組織にしようという提案が出され、参加者の総意によってその会が自動的に第1回大会となった。以後3年ごとに場所をかえて開催されており、わが国では1969年に第5回大会が開かれた。現在会員は約40か国約200名である。本会議では、109題が講演要旨集に集録され、これらは病害の種類、実験の手法や目的によって11のセッションに分けられて発表された。すなわち1～3セッションはトリステザウイルス（32題）、4、5はウイロイド（19題）、6、7は blight（17題）、8、9はその他のウイルス病（24題）、10、11はグリーンング病およびスタボーン病（17題）である。そして口頭発表60題、ポスター発表49題が3日間にわたって行われ、討論の対象

となった。プログラムの進行は一つの会場での口頭発表、ポスター発表会場でのコーヒーズブレイクと効率よく行われ、また大会4日目には会場を Lake Alfred にあるフロリダ大学 Citrus Research and Education Center (CREC) へ移し、シンポジウム「カンキツ病害防除に果すバイオテクノロジーの役割」ももたれた。

Tristeza トリステザウイルス (CTV) はアブラムシによって伝搬される closterovirus に属し、過去においてトリステザ病としてブラジル、アルゼンチンなどの南アメリカにおいて大きな被害を出した。これは主にサワーオレンジ台スイートオレンジという台木・穂木の組合せに CTV の系統の中の seedling yellows 系と tristeza 系によって成木の急性萎凋がおこるものである。そこで対策として抵抗性台木の探索が行われ、ラングブアライム、ラフレモン、カラタチ、シトレンジなどの抵抗性台木が使われるようになった。これによってトリステザ病は解決したかにみえたが、今度はステムピッチング系によるステムピッチングを伴う慢性的な樹勢の低下、果実の小玉化、収量の低下が各地で問題となった。このステムピッチング病対策として、弱毒ウイルスの強毒ウイルスに対する干渉作用を利用した被害回避が現在試みられ、実用化のための課題として優良弱毒株の探索と作出、系統分類、干渉作用の機構解明等があげられている。講演内容で興味を引いたものはつぎのとおりである。これまで単一植物中に CTV の異なる系統が混合感染していることは植物検定などの結果から推定されていたが、P. Moreno (スペイン) ら、T. Jarupat and J. A. Dodds (アメリカ) は二本鎖 RNA (ds

RNA)分析によりこれを証明し、加納らはアブラムシ伝染によってこれらが分離することを血清学的に明らかにした。M. Cambra (スペイン)らはモノクローナル抗体を用いてストレプトアビジンとビオチンを利用したエライザ法により、CTVの検出感度が向上すること、また加納らは2種のモノクローナル抗体を用い、日本産のCTVをいくつかの反応型に分け、CTVが血清学的に多様性を持つことを示した。Sekiya (アメリカ)らはCTVの capsid protein gene に対する相補DNA (cDNA)を同定し、これを用いた capsid protein gene のクローニングと構造や機能の解析によりウイルス外被タンパク質を介する干渉作用の研究が可能となることを発表した。このほか圃場における弱毒株利用による干渉効果の試験結果が多く報告された。

ウイロイド J. S. Semancik (アメリカ)は、前回のこの学会でウイロイド病であることが証明された cachexia も含めて、カンキツから分離されているウイロイドのグルーピングを宿主範囲や病徴、機能領域の構造的特徴と塩基配列の相同性の比較により行った。また、exocortis や cachexia の病原が属する CV-II グループのウイロイドが高い塩基配列相同性をもつこと、軽い exocortis の反応しか示さない CV-II_a が cachexia の病原である CV-II_b に干渉作用を示すことを報告した。cachexia の検定は、従来、ラフレモン台 Person's special mandarin 苗への接ぎ木接種によっていたが、これには12~18か月と長期間を要し、また28~32℃の温度条件下で実施せねばならず、コスト面においても不利であった。N. Duran-Vila (スペイン)らは、cachexia の検定に高感受性のエトログシトロンをウイロイドの複製植物として、sequential PAGE による検出を行い、3か月で高精度の検定が可能であるとし、スペインにおいて実用化に成功しているとした。

Blight これは young tree decline とも呼ばれ、フロリダにおいて100年近く前から原因不明の病害として知られ、現在、フロリダ以外のテキサス、ルイジアナ、ハワイ、ブラジル、アルゼンチン、コロンビア、キューバ、

南アフリカで発生が報告されている。今回の発表では、L. W. Timmer (アメリカ)ら、V. Rossetti (ブラジル)ら、M. J. G. Beretta (ブラジル)ら、L. J. Marais (南アフリカ)らにより、根接ぎ接種で本病が伝染することが報告され、病原究明への第一歩が踏み出された感じを受けた。

その他のウイルス ここではモノクローナル抗体を利用した citrus tatter leaf virus の検出が H. J. Su (台湾)らにより、CTV に干渉効果を示すことが知られている citrus vein enation virus がミカンクロアブラムシにより永続的に伝搬され、電顕所見から直径28 nm の球状粒子が罹病ラフレモンの篩部やウイルスを保有するアブラムシの腸や唾液腺に存在し、諸性質が luteovirus グループのウイルスに似ていることが J. V. da Graca (南アフリカ)らにより発表されたのが興味深かった。

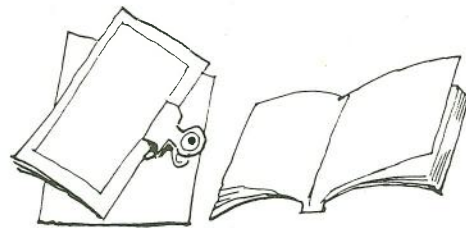
グリーンング病およびスタボーン病 この二つの病害は、はじめはウイルス病と考えられていたが、現在では、グリーンング病は2種類のミカンキジラミで伝染する篩部局在性の細菌(GO)、スタボーン病はマイコプラズマ目の *Spiroplasma citri* によることがわかってきている。C. Saillard (フランス)らは、polymerase chain reaction (PCR) による *S. citri* の検出がエライザ法やDNA-DNA ハイブリダイゼーションによるよりも少なくとも100倍以上精度が高いことを示した。M. Garnier (フランス)らは、インドおよび中国産のGOに対して作製したモノクローナル抗体に対するインド、中国、東南アジア各国のGOの反応から血清型の異なるGOが存在することを明らかにした。このほかグリーンング病に関しては、疫学的な研究成果の発表が多くなされた。

シンポジウム Somatic cell hybridization and its potential to improve disease resistance (J. Grosser), Application of tissue culture techniques in commercial citrus nurseries (M. Burke), Application of genetically engineered cross protection to control plant diseases (R. Beachy) の3題の講

演があった。R. Beachy の agroinfection の方法を用いてウイルスのコートタンパク (CP) の遺伝子を導入し、形質転換体を得、これを再分化させたいわゆるトランスジェニックプラントを用いた実験系で、TMV、ToMV などのウイルスにつきそれぞれ実験した結果、ウイルスの干渉効果はトランスジェニックプラント体内で生産される一次ウイルスの CP が後で侵入してきた二次ウイルスの脱外皮の初期段階を阻害することによると推察した講演が興味深かった。

以上、今回の学会の概略について述べてき

たが、わが国では果樹品種の多様化、高級化に伴い品種更新が積極的に進められているが、これに伴ってウイルス病あるいは接ぎ木伝染性病害が増えてきており、とくにウイルス病は重要な問題となっている。また、ウイルス病はわが国だけの問題でなく各国共通の問題でもあり、国際研究集会に参加し、研究情報の交換を行い、さらに、ウイルス病の発生園地を見学することは、果樹ウイルス病の研究を進めて行くうえで非常に有意義なことであり、今後更に参加の機会の拡大が望まれる。



特別情報

細胞育種技術の進捗状況

1989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1989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及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—

- 組換え DNA 技術が各作物を通じて急速に進展しつつあり、野菜、果樹等において、新たにトランスジェニック植物の作出事例が報告された。
- プロトプラスト培養系および体細胞胚形成系においても、引き続き成功例が増加している。
- 牧草類での培養系の進展がみられる。

〈用語解説〉

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
- 腋芽培養系……………腋芽を切り出して培養し、植物体を得る培養系
- 枝条(端)培養系……………枝の先端部を切り出して培養し、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また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また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→カルスまたは胚→
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→カルスまたは胚→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または液体窒素中で保存し、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良い
- 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良い
- 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良い)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 1989年1月作成

作物群	分類 栽培技術系 作物名	植物体再分化技術								細胞育種技術								備考		
		茎頂培養系	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	組換えDNA技術
普通作物	イネ	○	◎	◎	○	×	○	○	○	◎	△	○	×	△	×	◎	○	○	◎	× 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術
	コムギ	○	◎	◎	○	△	△	△	○	△	-	-	-	×	×	◎	○	×	×	
	オオムギ	○	◎	○	○	△	△	△	○	△	-	-	-	×	×	◎	○	×	×	
	ダイズ	◎	○	△	△	○	△	×	◎	△	-	-	-	×	×	×	○ ¹⁾	△	△	
	ササゲ	○	△	×	×	○	×	×	△	×	-	-	-	×	×	×	×	×	△	
	アズキ	○	△	×	×	×	×	×	×	×	-	-	-	×	×	×	△	×	×	
	バレイショ	◎	◎	○	○	○	◎	◎	△	◎	◎	◎	◎	×	×	◎	○	◎	◎	
	カンショ	◎	○	△	×	◎	○	△	△	○	○	×	◎	×	×	×	×	×	×	
	トウモロコシ	○	◎	○	△	△	○	△	○	○ ²⁾	△	△ ³⁾	×	×	○	○	○	△	○	
	ソルガム	×	○	○	×	×	○	△	○	△	×	×	×	×	×	○	○	△	×	
特用作物	テンサイ	○	-	△	×	△	○	×	△	△	○	○	-	×	×	△	△	×	×	
	サトウキビ	◎	○	-	-	-	△	-	○	△	○	○	◎	-	-	-	○	×	×	
	コンニャク	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	イグサ	◎	×	×	×	×	×	×	△ ⁴⁾	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	
	ナタネ	◎	◎	◎	◎	○	◎	◎	○	○	-	-	-	×	×	◎	○	○	○	
	ラッカセイ	○	△	△	×	×	×	△	×	×	×	×	-	×	×	×	×	×	×	
飼料作物	イタリアンライグラス	○	×	○	×	×	○	×	○	△	○	×	○	×	×	○	△	×	×	
	オーチャードグラス	○	×	△	×	×	○ ⁵⁾	△	○	△ ⁶⁾	×	×	○	×	×	×	×	×	△ ⁷⁾	
	チモシー	○	×	×	×	×	△ ⁸⁾	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	
	トールフェスク	○	×	○	×	×	○	×	○	○	×	×	○	×	×	○	×	×	×	
	ペレニアルライグラス	○	×	○	×	×	△ ⁹⁾	×	○	△ ¹⁰⁾	△	×	○	×	×	○	×	×	×	
	メドウフェスク	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	○	×	×	×	
	スミズブROOMグラス	×	×	○	×	×	×	×	×	△	×	×	×	×	×	○	×	×	×	
	ダリスグラス	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	バビアグラス	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	パニカム	×	×	×	×	×	○	×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	△	×	
	ローズグラス	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	アカクローバ	○	○	×	×	×	○	×	○	○	△	×	○	×	×	×	×	△	×	
	シロクローバ	○	○	×	×	○	○	×	○	○	△	×	○	×	×	×	×	×	△	
	アルファルファ	○	○	○	×	×	○	△	○	○	△	△	○	○	×	○	○	△	○	
ベントグラス	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×		
ライグラス	×	△	△	×	×	○	×	○	△	×	○	×	×	×	×	×	×	△		

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	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
飼料作物	ネピアグラス	×	×	×	×	×	○	×	○	○	×	¹¹⁾ △	×	×	×	×	×	×	×	×	×未開発 △報告あり ○可能 ◎安定技術
	パールミレット	×	×	×	×	×	○	×	○	○	×	¹²⁾ △	×	×	×	×	△	△	×		
	バーズフットレフォイル	×	×	△	×	×	○	×	△	○	△	×	×	×	×	△	△	△	○		
	スタイロサントス	×	×	×	×	×	○	×	△	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	ノシバ	×	×	×	×	×	○	×	○	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×		
	ケンタキーブルーグラス	×	×	×	×	×	¹³⁾ △	×	¹⁴⁾ △	¹⁵⁾ △	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
野菜	キュウリ	○	△	△	×	△	△	△	◎	○	×	○	-	×	×	×	×	△	¹⁶⁾ △		
	メロン	○	○	△	×	△	×	×	◎	○	△	○	-	×	△	×	×	○	¹⁷⁾ △		
	スイカ	○	△	×	×	△	×	×	○	×	×	○	-	×	△	△	×	×	×		
	カボチャ	○	○	×	×	○	×	○	○	×	×	△	-	×	△	△	×	¹⁸⁾ △	×		
	トマト	◎	◎	○	△	△	△	×	×	◎	×	△	-	×	△	△	△	○	◎		
	ナス	◎	○	◎	△	×	△	○	◎	◎	×	○	-	×	×	○	○	○	¹⁹⁾ ○		
	ピーマン	◎	○	◎	×	×	△	○	×	△	×	△	-	×	×	○	○	×	×		
	ダイコン	○	◎	×	×	△	×	×	×	×	×	×	-	×	×	×	×	△	×		
	キャベツ	◎	◎	◎	○	○	○	◎	◎	◎	×	○	-	△	△	○	○	◎	²⁰⁾ △		
	ハクサイ	◎	◎	◎	○	○	○	◎	○	○	×	△	-	×	○	○	○	◎	×		
	ブロッコリー	◎	◎	◎	○	○	○	○	△	◎	×	○	-	×	△	○	○	○	²¹⁾ △		
	イチゴ	◎	×	△	×	×	△	×	○	△	○	◎	◎	×	×	△	△	×	×		
	タマネギ	◎	△	△	×	×	×	△	○	○	×	○	-	×	×	×	×	²²⁾ △	×		
	ネギ	○	△	×	×	×	△	×	△	×	×	○	○	×	×	×	△	×	×		
	ニンニク	◎	×	×	×	△	×	×	△	×	○	○	◎	×	×	×	×	²³⁾ △	×		
	アスパラガス	◎	△	○	△	×	△	△	◎	○	△	◎	○	×	×	△	△	×	△		
	エンドウ	○	△	×	×	×	×	×	△	²⁴⁾ △	△	△	-	×	×	×	×	×	×		
	インゲンマメ	◎	○	×	×	×	×	×	△	×	×	×	-	×	×	×	×	×	×		
	ニンジン	○	×	△	×	×	◎	×	◎	◎	×	◎	-	○	×	×	○	○	○		
	セロリー	○	×	△	×	×	◎	×	◎	○	×	◎	-	○	×	×	○	×	×		
レタス	◎	×	×	×	×	○	×	○	◎	×	◎	-	○	×	×	×	○	²⁵⁾ ◎			
ゴボウ	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	-	×	×	×	×	×	×			
サトイモ	◎	×	×	×	×	×	×	×	○	○	◎	◎	×	×	×	×	×	×			
ヤマノイモ	○	×	×	×	×	△	×	△	△	○	△	○	×	×	×	×	×	×			
ホウレンソウ	○	×	×	×	×	×	×	△	△	×	×	-	×	×	×	×	×	×			
フキ	○	×	×	×	×	×	×	×	○	×	○	○	×	×	×	×	×	×			
果樹	ブドウ	◎	○	○	△	△	◎ ^E	◎ ^E	△ ^B	○	◎	◎	◎	×	×	△	△	×	²⁶⁾ △		

B: 単細胞または、体細胞組織からの不定芽誘導
E: " " 不定胚誘導

作物群	分類 作物名	植物体再分化技術								細胞育種技術							備考								
		系系 培養技術	莖頂培養系	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	組換えDNA技術				
果樹	カキ	○	○	△ ²⁷⁾	×	×	△ ^B	△ ^B	△ ^{28) B}	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	× 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術
	クリ	○	×	×	×	×	×	△	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ビワ	△	×	△	×	×	△ ^E	○	△ ²⁹⁾	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	オウトウ	◎	○	△	×	×	△ ^B	△ ^B	△ ^B	△ ^B	×	◎	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	西洋ナシ	◎	×	×	×	△	△ ^B	○	△ ^B	△ ^B	×	◎	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	パイナップル	○	×	—	×	×	○ ^B	×	◎ ^B	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ブルーベリー	◎	△	△	×	×	×	×	△ ^{30) B}	△	×	◎	×	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	
	キウイ	◎	△	△	×	×	◎ ^B	◎ ^B	◎ ^B	◎ ^B	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	△ ³¹⁾	
	ザクロ	◎	×	○	×	×	○ ^B	○ ^B	○	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	カンキツ	△	◎	◎ ^E	○	◎ ^E	◎ ^E	◎ ^E	◎ ^E	◎ ^E	△	△	◎	×	×	○	○	◎	△ ³²⁾	△	△	△	△	△ ³²⁾	
	リンゴ	◎	○	△ ^E	△ ^E	○ ^E	×	○ ^E	◎ ^B	△ ^B	○	◎	◎	×	×	△	×	×	×	△	△	△	△	△ ³³⁾	
	日本ナシ	◎	×	△	×	×	×	×	△ ^{34) B}	△	×	◎	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	モモ	◎	◎	△	×	△	○ ^B	○ ^B	×	×	×	◎	◎	×	×	×	○	×	×	△ ³⁵⁾	△	△	△	△ ³⁵⁾	
	スモモ	◎	○	×	×	△	×	×	×	×	×	◎	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	アンズ	△	○	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
ウメ	×	○	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
花き	キク	◎	△	×	×	×	△	×	×	○	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ツツジ	◎	×	×	×	△	×	×	×	○	◎	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ユリ	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	チューリップ	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	カーネーション	◎	△	×	×	△	△	×	×	△	○	○	◎	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ラン類	◎	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
桑	クワ	◎	◎	△ ³⁶⁾	×	×	×	×	×	×	◎	◎	×	△ ³⁷⁾	×	×	×	×	×	△ ³⁸⁾	△	△	△ ³⁸⁾		
茶	チャ(カメリア)	◎	◎	○	×	×	×	×	○	×	×	○	×	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	
	タバコ	◎	—	◎	◎	◎	◎	◎	○	◎	—	◎	—	—	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	

B: 単細胞または、体細胞組織からの不定芽誘導
E: " " 不定胚誘導

作物群	分類	植物体再分化技術											細胞育種技術							備考			
		培養系	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	組換えDNA技術
作物名																							
樹	スギ	○	×	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	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	◎	×	◎	×	×	×	×	○ ^B	×	×	◎	×	○	×	×	×	×	×	×	○	×	
	ヤマナラシ	×	×	○	×	○	×	×	○ ^B	×	×	◎	×	○	×	×	×	×	×	×	○	×	
	ヒロハハコヤナギ	◎	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	×	○	×	
	イタリーポプラ類	◎	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	×	○	○	
	トチノキ	×	◎	×	×	×	×	×	○ ^E	×	○ ^F	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	シラカンバ	◎	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	×	○	×	×	×	×	×	×	
	クヌギ	×	◎	×	◎	×	×	×	○ ^E	×	◎ ^E	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	
	コナラ	×	○	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ミズキ	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	キハダ	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	
	コウゾ	×	△ ³⁹⁾	◎	×	×	×	×	○ ^{F)}	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ミツマタ	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	キリ	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	
ミズメ	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
クチナシ	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
ハクチョウゲ	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
シナノキ	×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
サクラ	△ ⁴⁰⁾	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
木	ジンチョウゲ	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	ヒロム	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	フユボダイジュ	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	ユーカリ	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	アキニレ	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	イヌエンジェ	×	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	ケヤキ	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		
	ハゼノキ	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		

B: 単細胞または、体細胞組織からの不定芽誘導
E: " " 不定胚誘導

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	莖頂培養系	腋芽培養系	枝條(端)培養系	胚培養系	葯培養系	花粉培養系	胚珠培養系	單細胞培養系	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	組換えDNA技術
樹	ニセアカシア	×	×	×	△ ⁴¹⁾	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	ヤマモモ	×	×	×	△ ⁴²⁾	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	カジノキ	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○ ⁴³⁾	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
木	ドイツトウヒ	×	×	○	○	×	×	×	○ ^{E,B)}	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	ラジアータマツ	○	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	デーダマツ	×	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

B: 単細胞または、体細胞組織からの不定芽誘導
E: " " 不定胚誘導

3. 細胞育種技術の進捗状況文献 (1989年調査で新たに△になった文献を中心に記載)

- 1) ダイズ
Barwale, U.B. and J.M. Widholm (1987) Somaclonal variation in plants regenerated from cultures of soybean. *Plant Cell Rep.* 6:365-368
Freytag, A. H., et al. (1989) Somaclonal variation in soybean plants regenerated from tissue culture. *Plant Cell Rep.* 8:199-202
- 2) トウモロコシ
Coumans, M.P., S. Sohota, and E.B. Swanson (1989) Plant development from isolated microspores of *Zea mays* L. *Plant Cell Rep.* 7:618-621
Pescitelli, S.M., J.C. Mitchell, A.M. Jones, D.R. Pareddy and J.F. Petolino (1989) High frequency androgenesis from isolated microspores of maize. *Plant Cell Rep.* 7:673-676
- 3) トウモロコシ
Hisajima, S. and Y. Arai (1987) Micropropagation of maize plant through seed culture *in vitro*. *Plant tissue culture letters* 4:38-40
- 4) イグサ
中原隆夫ら, (1989) イグサの不定胚形成と植物体再生. 育種39 (別2) :96-97
- 5) オーチャードグラス
Gray, D.J. and B.V. Conger (1985) Influence of dicamba and casein hydrolysate on somatic embryo number and culture quality in suspensions of *Dactylis glomerata* (Gramineae). *Plant Cell Tissue Organ Culture* 4:123-133
- 6) オーチャードグラス
Horn, M.E., B.V. Conger and C.T. Harms (1988) Plant regeneration from protoplasts of embryogenic suspension cultures of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). *Plant Cell Rep.* 7:371-374
- 7) オーチャードグラス
Horn, M.E., R.D. Shillito, B.V. Conger and C.T. Harms (1988) Transgenic plants of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) from protoplasts. *Plant Cell Rep.* 7:469-472
- 8) チモシー
Kasperbauer, M.J., R.C. Buckner and W.D. Springer (1980) Haploid plants by anther-panicle culture of tall fescue. *Crop Science* 20:103-107
- 9), 10) ペレニアルライグラス
Creemers-Molenaar, J., Van der P. Valk, J.P.M. Loeffen and M.A.C. Zaal (1989) Plant regeneration from suspension cultures and protoplasts of *Lolium perenne* L. *Plant Science* 63: 167-179
- 11) ネピアグラス
Vasil, V., D.Y. Wang and I.K. Vasil (1983) Plant regeneration from protoplasts of napier grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) *Z. Pflanzenphysiol.* 111:233-239

- 12) パールミレット
Vasil, V. and I.K. Vasil (1980) Isolation and culture of cereal protoplasts. Part II: Embryogenesis and plantlet formation from protoplasts of *Pennisetum americanum*. *Theor. Appl. Genet.* 56:97-99
- 13), 14), 15) ケンタッキーブルーグラス
Van der P. Valk, M.A.C. Zaal and J. Creemers-Molenaar (1989) Regeneration of albino plantlets from suspension culture derived protoplasts of *Poa pratensis* L. (Kentucky bluegrass). *Euphytica* Suppl.:169-176
- 16) キュウリ
Trulson, A. J., R.B. Simpson and E.A. Shahin (1986) Transformation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants with *Agrobacterium rhizogenes*. *Theor. Appl. Genet.* 73:11-15
- 17) メロン
山口淳子・志賀敏夫 (1989) メロン (*Cucumis melo* L.) と台木カボチャ (*Cucurubita maxima* × *C. moschata*) との細胞融合による植物体再分化. 育雑39(別1) 28-29
- 18) カボチャ
山口淳子・志賀敏夫 (1989) メロン (*Cucumis melo* L.) と台木カボチャ (*Cucurubita maxima* × *C. moschata*) との細胞融合による植物体再分化. 育雑39(別1) 28-29
- 19) ナス
Guri, A. and K.C. Sink (1988) *Agrobacterium* transformation of eggplant. *J. Plant Physiol.* 133:52-55
- 20) キャベツ
Shivastava, V., A.S. Reddy and S. Guha-Mukherjee (1988) Transformation and regeneration of *Brassica oleracea* mediated by an oncogenic *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep.* 7:504-507
- 21) ブロッコリー
Shivastava, V., A.S. Reddy and S. Guha-Mukherjee (1988) Transformation and regeneration of *Brassica oleracea* mediated by an oncogenic *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Rep.* 7:504-507
- 22) タマネギ
福田美砂・石塚一宏・鳥居義衛・山田康之 (1989) タマネギとニンニクの細胞融合. 植物組織培養学会大会シンポジウム講演要旨集 p.231
- 23) ニンニク
福田美砂・石塚一宏・鳥居義衛・山田康之 (1989) タマネギとニンニクの細胞融合. 植物組織培養学会大会シンポジウム講演要旨集 p.231
- 24) エンドウ
Pounti-Kaerlas, J. and T. Eriksson (1988) Improved protoplast culture and regeneration of shoots in pea (*Pisum sativum*). *Plant Cell Rep.* 7:242-245
- 25) レタス
Cbudeau M.C., et al. (1989) Transgenic plants of lettuce (*Lactuca sativa*) obtained through electroporation of protoplasts. *Bio/technology* 7:503-508
- 26) ブドウ
Baribault, T. J., K.G.M. Skene and N.S. Scott (1989) Genetic transformation of grapevine cells. *Plant Cell Rep.* 8:137-140
- 27) カキ
杉本和宏・武藤正義・篠田 環・野原定夫 (1989) カキ蒴培養における再分化. 育雑39(別2): 78-79
- 28) カキ
Tao, R., H. Murayama, K. Moriguchi and A. Sugiura (1989) Plant regeneration from callus cultures derived from primordial leaves of adult Japanese persimmon. *Hort. Science* 23: 1055-1056
福井博一・野崎国芳・中村三夫 (1989) カキ“富有”の培養シュートの葉からの不定胚形成 園学雑 58(別2): 58-59
- 29) ビワ
東 明弘・桑波田龍沢 (1989) ビワ“茂木”の茎頂由来カルスからの植物体形成. 園学雑 58(別2): 50-51
- 30) ブルーベリー
Billings, S.G., C.K. Chin and G. Jelenkovic (1988) Regeneration of blueberry plantlets from leaf segments. *Hort. Science* 23:763-766

- 31) キウイ
植松千代美・村瀬 誠・市川裕明・今村 順 (1989) *Agrobacterium*を用いたトランスジェニックキウイの作出. 育雑39 (別2) :4-5
- 32) カンキツ
日高哲志・大村三夫・宇垣正志・富山雅光・加藤 明・大島正弘・本吉総男 (1989) *Agrobacterium*によるカンキツの形質転換. 育雑39 (別1) :116-117
- 33) リンゴ
James, D.J., A.J. Passey, D.J. Barbara and M. Bevan (1989) Genetic transformation of apple (*Malus pumila* Mill.) using a disarmed Ti-binary vector. *Plant Cell Rep.* 7:658-661
- 34) 日本ナシ
Lane, W.D., 林 建樹・池谷祐幸 (1989) 日本ナシ栽培品種の培養系における不定芽形成. 園学雑 58 (別2) :60-61
- 35) モモ
Hammerschlag, F.A., L.D. Owens and A.C. Smigocki (1989) *Agrobacterium*-mediated transformation of peach cells derived from mature plants that were propagated *in vitro*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114:508-510
- 36) クワ
諸我敏夫 (1989) クワ蒔培養における胚様体形成. 日蚕・中部支部講要 p.51
- 37) クワ
Bapat, V.A., et al. (1987) Propagation of *Morus alba* L. (mulberry) by encapsulated shoot buds. *Plant Cell Rep.* 6:393-395
- 38) クワ
町井博明 (1989) クワに導入された β -グルクロニダーゼ (Gus) 遺伝子の発現. 日蚕・関東支部講要 p.16
- 39) コウゾ
尾暮正義 (1989) バーミキュライトへの移植による培養クワシュート及びコウゾシュートの発根. 日蚕第59回講要 p.5
- 40) サクラ
酒谷昌孝・天野孝之 (1987) 組織培養によるナラノヤエザクラ (*Prunus leveilleana* Koehne. cv. *antiqua*) の増殖. 奈良県林試研報 17:26-31
- 41) ニセアカシア
邦 徳本・須藤昭二・玉泉幸一郎 (1989) ニセアカシアのカルスからの芽の分化. 第100回日林論集 515-516
- 42) ヤマモモ
伊東裕道 (1989) ヤマモモの組織培養による増殖. 第100回日林論集 517-519
- 43) カジノキ
片桐幸逸 (1989) カジノキ (*Broussonetia papyrifera* (L.) Vent.) 葉肉プロトプラストからの不定芽形成. 日蚕関東支部第40回講要 p.17

編集後記

本号文献情報の「形質転換植物に抗体を作らせる」(Natureより)は図らずも科学朝日3月号でも取りあげられていました。これは脊椎動物に特有な抗体を植物に作らせるという画期的な研究で、植物に抗体を自由に作ら

せることができるようになれば、植物体内での生理活性物質生産の制御や植物病原ウイルスや細菌の増殖制御への利用も夢ではないように思われます。

(大畑記)

ブレイン テクノニュース (第18号)

平成2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