

# BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

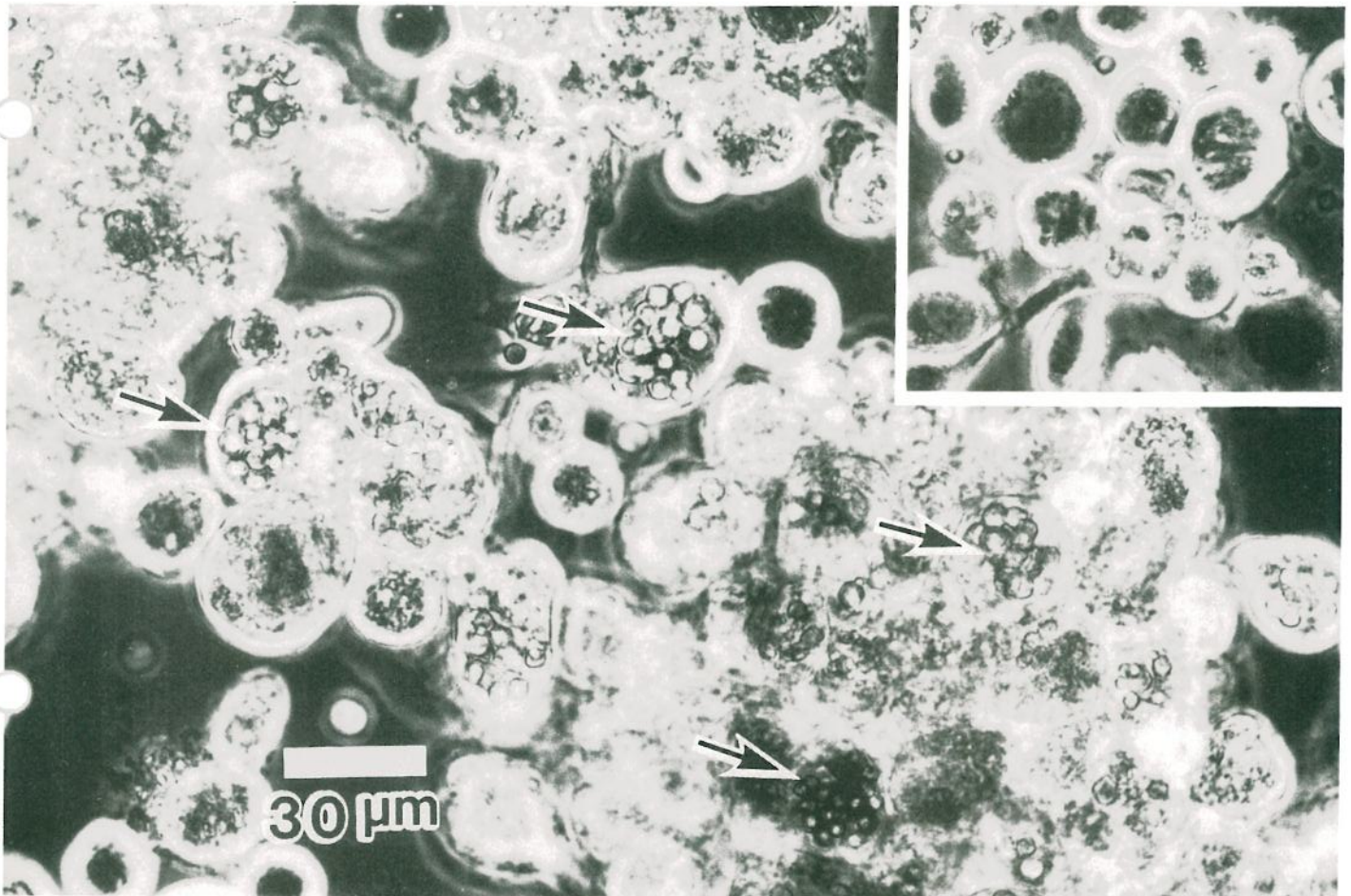
TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

## 第24号

MARCH 15, 1991



### 表紙説明

鱗翅目害虫の一種カブラヤガの孵化幼虫から樹立された培養細胞で増殖したカブラヤガの核多角体病ウイルスの多角体(矢印)

感染6日目の位相差顕微鏡写真

右上は正常細胞

(写真提供 佐藤 威氏)

### 本号の紙面

国内情報.....	1
サケ・マス類の川下り開始のメカニズム、植物用シャトルベクター、ビジョンプーの鉄型リン酸吸収機構と半乾燥熱帯の作物生産、縞葉枯ウイルス外被タンパク遺伝子導入イネ、バレイショ生澱粉分解アミラーゼ	
文献情報.....	16
抗チューブリン除草剤によるレーシマニア症の抑制、自家不和合性には花粉 rRNA が関与、細胞死をひき起こす遺伝子、寄生顕花植物からの光合成および色素体呼吸鎖遺伝子の喪失	
海外便り.....	21
カリフォルニア大学に留学して	
特別情報.....	24
細胞育種技術の進捗状況 1990年度	

## 口 絵

### 国内情報

岩田宗彦

サケ・マス類の川下り開始のメカニズム…………… 1

宇垣正志

植物用シャトルベクターの開発…………… 4

阿江教治

ピジョンピーの鉄型リン酸吸収機構と半乾燥熱帯の作物生産における役割…………… 8

大槻義昭

縞葉枯ウイルス外被タンパク遺伝子を導入したイネの作出…………… 11

谷口 肇

バレイショ生澱粉を強力に分解するアミラーゼ…………… 13

### 文献情報

抗チューブリン除草剤トリフルラリンによるレーシマニア症の抑制……………16

タバコ属の自家不和合性には花粉rRNAの分解が関与…………… 17

正常な成長過程の細胞死をひき起こす遺伝子…………… 18

寄生顕花植物の色素体遺伝子よりの光合成および色素体呼吸鎖遺伝子の喪失…………… 19

### 海外便り

畔上耕児

カリフォルニア大学に留学して

——発光遺伝子を用いた細菌の検出と追跡——…………… 21

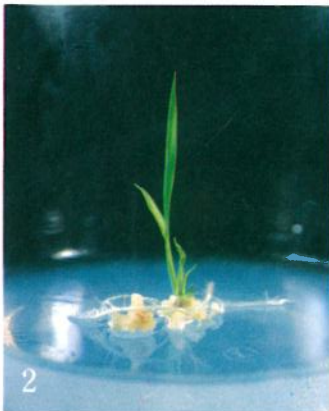
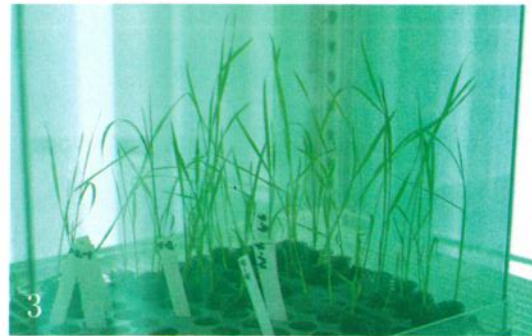
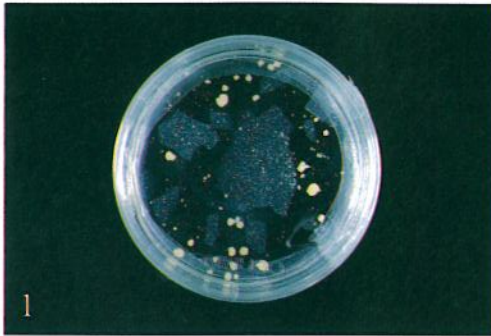
### 特別情報

中島阜介

細胞育種技術の進捗状況 1990年度…………… 24

## 縞葉枯ウイルス外被タンパク遺伝子を導入したイネの作出

(本文 11 ページ)



### 1. ハイグロマイシン耐性コロニーの選抜

イネ・プロトプラストに縞葉枯ウイルス外被タンパク遺伝子とハイグロマイシン耐性遺伝子を組込んだプラスミドをエレクトロポレーションで導入し、ハイグロマイシン添加培地中で培養する。両遺伝子が導入された細胞のみが増殖してコロニーとなる。

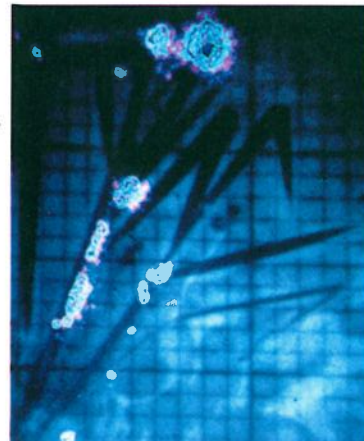
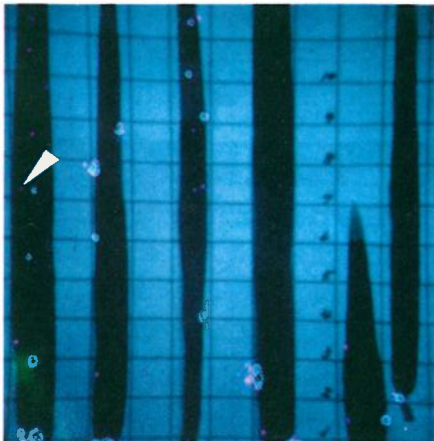
### 2. 再分化した形質転換イネ

上記のコロニーから再分化させたイネ

### 3. 馴化箱内で育苗中の形質転換イネ

## カリフォルニア大学に留学して——発光遺伝子を用いた細菌の検出と追跡

(本文 21 ページ)



### 組換え細菌を接種した植物体のフットンイメージアナライザー画像

通常画像にフットンイメージを重ねさせた写真。

発光遺伝子を入れた組換え細菌の存在部位(白赤青の部位)が目瞭然である。

#### 左. 野生オオムギ上の組換え細菌存在部位

矢印の先の青い点では1時間に13フットンがカウントされ、2コロニーの発光細菌が分離された。

#### 右. イネ上の組換え細菌存在部位



## 国内情報

## サケ・マス類の川下り開始のメカニズム

農林水産省 養殖研究所 日光支所 育種研究室

岩田宗彦

## はじめに

多くのさけ・マス類の魚種が川を下り、海洋の生活を経て成長し、産卵のために再び生まれた川に戻ることはよく知られている事実である。産卵のために帰ってきた親魚が、河床で産卵する秋からさけ・マス類の一生は始まる。さけ・マス類と呼ばれる仲間には、サケ属、イワナ属、サルモ属（以前はニジマス属と呼ばれた）およびイトウ属があり、川を下り海に行くことに関してそれぞれ異なる性質を持っている。

シロサケやカラフトマスのように、ふ化直後まだ腹部にいくらかの卵黄をつけている時期にすでに川を下り（降河）、海へ生活場所を移す種類もあれば、1～2年間の淡水生活を経て、海へ下るギンザケやサクラマスのような種類もある。サクラマス種には、海に下る個体と、一生川で暮らす魚とがいる。この川下りをしないグループはヤマベとかヤマメと呼ばれる。サクラマス以外でもサケ科魚類のほとんどの種類で、海に下る個体と、川や湖で一生を過ごす個体が現れる。全く海に下らない種類としては、カワマスやレークトラウトが思い浮かぶぐらいで、どの種族でも何等かの個体が海に下り成熟して川に戻って来ることが知られている。逆に、カラフトマス、シロサケ（サケ）には、川下りをしないで淡水で一生を過ごす群は知られていない。このようにサケ科魚類は、降海回遊の性質に関して豊富な変異を有する興味ある魚類である。

我々は、降河行動を開始するにいたるサケ科魚類の生理的機能の変化と生態の関わりを調べてきた。ここでは、降海期までの浸透圧調節能の変化と行動の関係、降河回遊開始に

関わる甲状腺ホルモンの役割について、主にシロサケやギンザケを材料にして行った最近の研究結果を紹介することにより、サケやマスの仲間が有する特徴的な回遊生態を、生理機構の変転による生態や行動の制御の観点から紹介する。

1. 浸透圧調節能の発達とスモルティン  
グ変態

シベリヤや北米の太平洋岸に分布するカラフトマスと、わが国の増殖の対象魚種であるシロサケの海水適応能は、すでに卵の段階から発達する。受精させたシロサケの卵を海水に移して、あるいは再び淡水に戻しながら卵黄の浸透圧の変化を追跡すると、卵膜の内側の細胞膜に調節機能があることが明らかになる。この浸透圧調節能は、胚の発達とともに機能が高まる。ふ化後仔魚の鰓の発達とともに、海水に対する浸透圧調節能は一層向上して、早春の卵黄吸収期に最高となる。この時期魚の体重はせいぜい200mgから400mgの小さな体であるが、この小さな淡水魚を直接外洋の海水に移しても、体液の浸透圧や各種塩類イオン濃度は適切に調節され、不必要な塩類の浸入や、あるいは脱水は起こらない。実際、金魚は海水で生きることができないし、サンマやイワシが水道水を満たした金魚鉢で飼えるわけでもない。このことから、小さなサケ稚魚が、海水の約30%の塩分濃度を血液中に維持しながら、淡水から海水に生活場所を変えることが、いかに驚異的であるか理解できる。この特殊な生理機能の変化とともに、体の色や形、あるいは行動や生態が大きく変わる生理的変態を“smolting”とか“銀化”と

呼び、サケ科魚類やウナギの回遊ではきわめて重要な研究テーマである。

## 2. 鰓の働きと浸透圧調節

サケやマスにかかわらず、魚類が水中で生きることができるのは、鰓の表面に分布する呼吸細胞が水中の溶存酸素を取り込むことによる。また、塩類細胞は必要な塩類イオンを能動的に取り込んだり、不要な塩類イオンあるいは代謝老廃物であるアンモニア類を排出することで、体液の恒常性を保持している。外環境水に接する鰓の細胞膜を通じて物質が出入できる理由の一つは、細胞膜がセロハン膜のような性質を持っていることによる。セロハン膜に塩水を入れて水の中に吊り下げると、塩分が外に出て、水が内側に入る。この移動はエネルギーを伴わない“受動輸送”と呼ばれる、溶質の濃度勾配による移動で、漬物の原理と同じである。淡水中の魚では、受動輸送により体内の塩分が外に流出し、外部の水が体内に浸入する。海水魚の塩分は海水の30%しかないので、塩分が浸入して、水分が流出する。受動輸送ばかりでは水の中で生存できない。細胞膜には能動輸送を受け持つポンプが各種存在する。このポンプはATPのエネルギーにより、荷電しているイオンを濃度勾配に逆らって移動させる。海水適応能が十分発達していないサクラマスに成長ホルモンを注射して、次の日に海水に投入すると、明らかに塩類バランスが改善される。したがって、海水中での能動的な浸透圧調節能の向上には、成長ホルモンが関与すると考えられる。また、副腎皮質からのコルチゾンにも同様の効果が認められている。

## 3. スモルティング変態と川下り

ほとんどのサケ科魚類が川を下る時期は、シロサケの例で見られる幼若期ではない。釣り人がよく知っているヤマメのように、体の側面に小石のような斑点の模様をつけて1～2年、あるいはそれ以上の期間淡水で生活し、体の長さが10cmか20cm以上に成長して遊泳力

が強くなった春や夏の初めに海に向かって旅立つ。ベニザケやギンザケでは、体重が6～15gまで成長した晩春から、鱗に銀色のグアニン色素が沈着して銀化変態を始める。体色が銀色に変わるのは海での生活に適応する場合ばかりではなく、湖に下る場合でも海水適応能の発達とは無関係に銀白色に変わり、水深の深い生息域に適応した姿になる。海水に対する浸透圧調節能を実験的に確かめると、0歳の春や秋に向上して海水に適応できる程になるが、実際には、特別な例を除き秋に川を下ることはない。1歳の春に再度海水適応能が最高機能に達した時期が海に下る季節になる。もし、川下りが起こらない場合には、彼らはもう1年淡水で過ごすことになる。したがって、海水適応能が向上しても、必ずしも降河行動が誘発されるわけではないことが明らかになる。すなわち、両者は異なる制御機構に支配されていることになる。

## 4. 降河行動の誘発機構

サケやマスが川を下り、海洋での生活に移るためには海水適応能があらかじめ準備されている必要があることを述べた。同様に、海水適応能が備わっても、春期以外には降河回遊が起こらないことも述べ、両者の機構が異なることを予測した。1930年代後半に、魚類の甲状腺を研究していたカナダのW.S. Hoarは、春先に降海する前の大西洋マスの甲状腺濾胞が肥厚していることを発見した。このことから、スモルティング変態と甲状腺機能の関係が予測され、ウシなどの哺乳類の甲状腺粉末の投与が、淡水型のサケ幼魚の体色を銀色にすることから、甲状腺から分泌されるホルモンはスモルティング変態に効果を持つことが認められるようになった。特異的抗体による免疫測定法が、魚類のホルモン測定に導入されたことにより、1970年後半から血中の甲状腺ホルモン濃度を測定できるようになった。Hoarが予測したように、変態する魚の血中甲状腺ホルモン濃度は、変態しない魚より高いレベルにあることが知られた。さらに、ごく短時間だけ急激なホルモン濃度の増加が

見つかった。

我々の研究室では、先づ甲状腺ホルモンが海水適応能の発達には無関係であることを明らかにした後、降海期に特有の生態的、行動的变化との関係を実験的に調べ始めた。普段では暗がりに隠れる習性を持つ魚が、降河直前になると明るい場所に出て来ることを利用して、甲状腺ホルモンを投与したサケに照度を選択させた。甲状腺ホルモン処理群は、明るい場所を好むように変化する。甲状腺ホルモンや成長ホルモンを投与すると、好奇心が強くなり、未経験の場所を探索する行動が現れる、などの結果を得た。変態期のサケ科魚類の血中甲状腺ホルモン濃度が増加する原因として、月齢に関係することが知られていた。我々は、サケやマスの降河行動が、低緯度では3月頃に、高緯度では5～6月に起こることから、雪解け時期との関係に興味をもった。何故なら、増水期にサケの稚魚が川を下ることは古くから知られていたからである。実験的に雪解けの条件を与えると、とりわけ濁り水と、低水温が甲状腺ホルモン濃度を増加させることを突き止めた。そこで、孵化場の下流側の網を外してから人工的な濁り水を与えると、3時間で血中の甲状腺ホルモンは約7倍に増加するとともに、95%の実験魚は孵化場を後にして海へ旅立って行った。詳細な実験を続けているものの、サケやマスの川下りを引き起こす環境物質、それを感知する感覚器官、その信号が脳を経由して甲状腺に達し、甲状腺からホルモンを分泌させることにより、降河行動を誘発する道筋が明らかにできた。

## あとがき

もの言わぬ魚の生態を論理的に説明できる証拠を見いだすことは容易ではない。いわゆる生態と言われている現象には、多くの要素が含まれていて、生き物は個々の要素を総合判断して最適の道を選んでいるように思う。したがって私は、多くの要素を均一にしながら、目的の要素だけを変動させる実験的生態学から魚の生き方を知ろうと考えている。この次には、魚のコミュニケーション、回遊、生まれた川に帰る記憶とは何かについて研究を考えている。

## 文 献

- 1) Hoar, W.S. (1988) *Fish Physiology*, XIB, (eds.) W.S. Hoar and D.J. Randall, Academic Press Inc., Tokyo. pp. 275-343
- 2) Iwata, M., S. Hasegawa and T. Hirano, (1982a) *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* 39: 509-514
- 3) Iwata, M. (1982b) *Proc. North Pacific Aquacul.*, pp.51-59. Alaska Sea Grant. Anchorage
- 4) Iwata, M., S. Komatsu, S. Hasegawa, T. Ogasawara and T. Hirano (1987) *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 1969-1973
- 5) 岩田宗彦・井田 斎・田川正明・平野哲也 (1988) 昭和63年日本水産学会秋、講演要旨, pp. 47.
- 6) Iwata, M., M. Tagawa, H. Ida, K. Suzuki and T. Hirano, (1989) *Hormones and the Environment, Proc. Asia & Oceania Society for Comp. Endocrinology*, pp. 137-138
- 7) Iwata, M., T. Yamanome, M. Tagawa, H. Ida and T. Hirano (1989) *Aquaculture* 82: 329-338
- 8) 岩田宗彦・田川正明・山野目 健・井田 斎・平野哲也 (1989) 大槌臨海研究センター報 15: 1-9

国内情報

## 植物用シャトルベクターの開発

農林水産省 農業生物資源研究所 抵抗性遺伝子研究室

宇垣正志

### はじめに

私たちは、植物細胞に外来遺伝子を入れてはたらかせるためのまったく新しいタイプのベクター（遺伝子の運び屋）を開発した。

植物の遺伝子工学の進歩はめざましく、植物に固有の生命現象が遺伝子のレベルで次々と解き明かされつつある。また、有用な形質を持つ遺伝子組換え作物が作られ始めている<sup>1)</sup>。わが国でも、私たちの作ったウイルス抵抗性の組換えトマト<sup>2)</sup>が、すでに室内での試験を終え、野外での試験に入ろうとしており、組換え作物の実用化も目前と思われる。

植物の遺伝子工学で最も重要な技術のひとつは、植物細胞に外来の遺伝子を入れてはたらかせる植物形質転換の技術である。この技術として、Tiプラスミド法、直接導入法など、多くの方法が報告されている<sup>3)</sup>が、それらの方法はすべて、「外来遺伝子を植物の染色体に組み込む」方法である。その場合、組み込まれた外来遺伝子のコピー数はふつう細胞あたり1から数コピーにすぎない。そこで私たちは、「植物の細胞内で自律的に増えるベクターを作り、そのベクターに外来遺伝子を組み込む」ことを考えた。この場合、外来遺伝子はベクターとともに多数コピーに増え、大量の遺伝子産物を作ると期待される。

そこで、私たちは、植物ウイルスの遺伝子を改変することにより、植物細胞の中で数百コピーに複製する新しいタイプの植物用ベクター pWI-11 を開発した<sup>4,5)</sup>。このベクターは植物細胞で増えるだけでなく、大腸菌でも増えるシャトルベクター（複数の異なる生物の細胞で増えるベクター）になっている。したがって、このベクターは、外来遺伝子の産

物を植物内で大量に作るだけでなく、植物の有用遺伝子を容易に単離するなど、ほかのさまざまな目的にも利用できる。

### 1. シャトルベクターの構築

植物細胞と大腸菌のシャトルベクターには、次の要素が必要である：①植物細胞の中で複製するのに必要な配列、②ベクターが入った植物細胞を選び出すための選択マーカー遺伝子、③大腸菌の中で複製するのに必要な配列、④大腸菌の選択マーカー遺伝子。

植物細胞内での複製に必要な配列としては、コムギの細胞核の中で数百コピーに増殖するジェミニウイルスの一種 Wheat Dwarf Virus (WDV) の DNA の一部を用いた。WDV のゲノム DNA の複製中間体は、2.7kb の環状 2 本鎖 DNA である (図 1 A)。この DNA から、植物細胞内での複製に必要な配列、すなわち細胞間移行タンパク遺伝子 (Move) およびコートタンパク遺伝子 (Coat) を除き、複製に必要な配列、すなわち複製関与タンパク遺伝子 (Rep) および二つの遺伝子間領域 (IRS と IRT) を残した。

植物細胞でのマーカー遺伝子として、WDV の持つもっとも強いプロモーターであるコートタンパク遺伝子プロモーターの下流にカナマイシンを不活化する NPT II 遺伝子のコーディング領域とターミネータをつないだ。

大腸菌内での複製に必要な配列としては、大腸菌のプラスミド p15A の複製開始部位 (ori) を用いた。

本来なら、さらに大腸菌でのマーカー遺伝子を用意しなければならないところであるが、好運にも、予想に反して、植物細胞用のマー



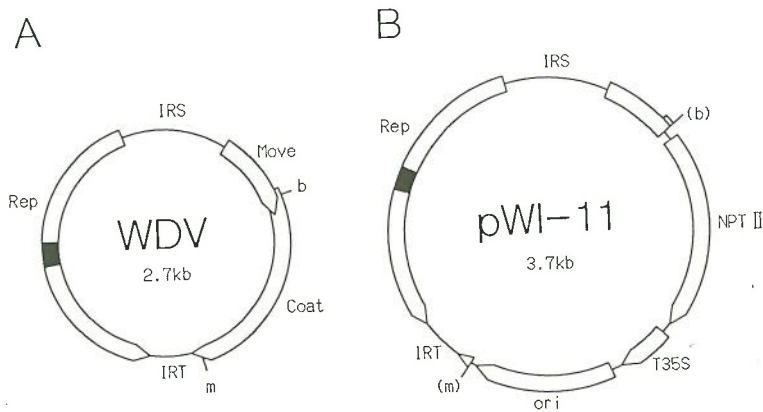


図1 Wheat Dwarf Virus(WDV)のDNA(A)およびシャトルベクターpWI-11(B)

- Rep :複製に関与するタンパクの遺伝子  
 IRS, IRT :遺伝子間領域  
 Move :細胞間移行に関与するタンパクの遺伝子  
 Coat :コートタンパクの遺伝子  
 NPT II :カナマイシン耐性遺伝子  
 T35S :ターミネータ  
 ori :大腸菌プラスミドp15Aの複製開始部位

カー遺伝子 (WDV のコートタンパク遺伝子プロモータ+NPT II 遺伝子) が、大腸菌の中でもはたらくことがわかったのでこれをそのまま利用した。

このようにして、全長が3.7kbとコンパクトなシャトルベクター pWI-11を作った (図1 B)。

## 2. シャトルベクターの大腸菌での複製

大腸菌にpWI-11を入れたところ、pWI-11は大腸菌の中でプラスミドp15Aと同程度のコピー数に増え、大腸菌に70 μg/ml という高いカナマイシン耐性を与えた。

## 3. シャトルベクターの植物細胞での複製

トウモロコシの胚乳由来の培養細胞からプロトプラストを作り、pWI-11をエレクトロポレーションによって入れて、その消長をサザン法で調べた (図2)。複製しないネガティブ・コントロールとしては、pWI-11の複製関与タンパク遺伝子の一部と遺伝子間領域の一部を欠失したプラスミド pWI-del を用いた。その結果、pWI-delがプロトプラストに入れたのち数日で消えてしまったのに対し、pWI-11は一度減少するものの数日後から増え始め、9日後にも大量に存在した。したが

って、pWI-11が植物細胞内で複製することがわかった。pWI-11のコピー数は細胞あたり数百コピーと推定された。

次に、pWI-11が植物細胞や大腸菌の中で変異しないことを確かめるために、pWI-11が増えたプロトプラストからpWI-11のDNAを抽出し、それを再び大腸菌に入れた。大腸菌の中で増えたpWI-11は、もとのDNAと同一の制限地図を示し、再び植物細胞に入れたところ、もとのDNAとまったく同じパターンの消長を示した (図2)。以上のことから、pWI-11は植物細胞と大腸菌の細胞間を行ったり来たりし (シャトル) ても変異しないことが確認された。

同様にして、pWI-11はイネ細胞中でも複製することがわかった。

## 4. シャトルベクターの利用

### ① 外来遺伝子を大量に発現させる

外来遺伝子をこのベクターにつないでコピー数を数百倍に増やすことにより、大量の遺伝子産物を植物細胞で作ることができると期待される。そこで、pWI-11にカリフラワーモザイクウイルスの35Sプロモータによって発現するβ-グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子をつないだプラスミド pWI-GUS を構築し、トウモロコシのプロトプラストに入れた。



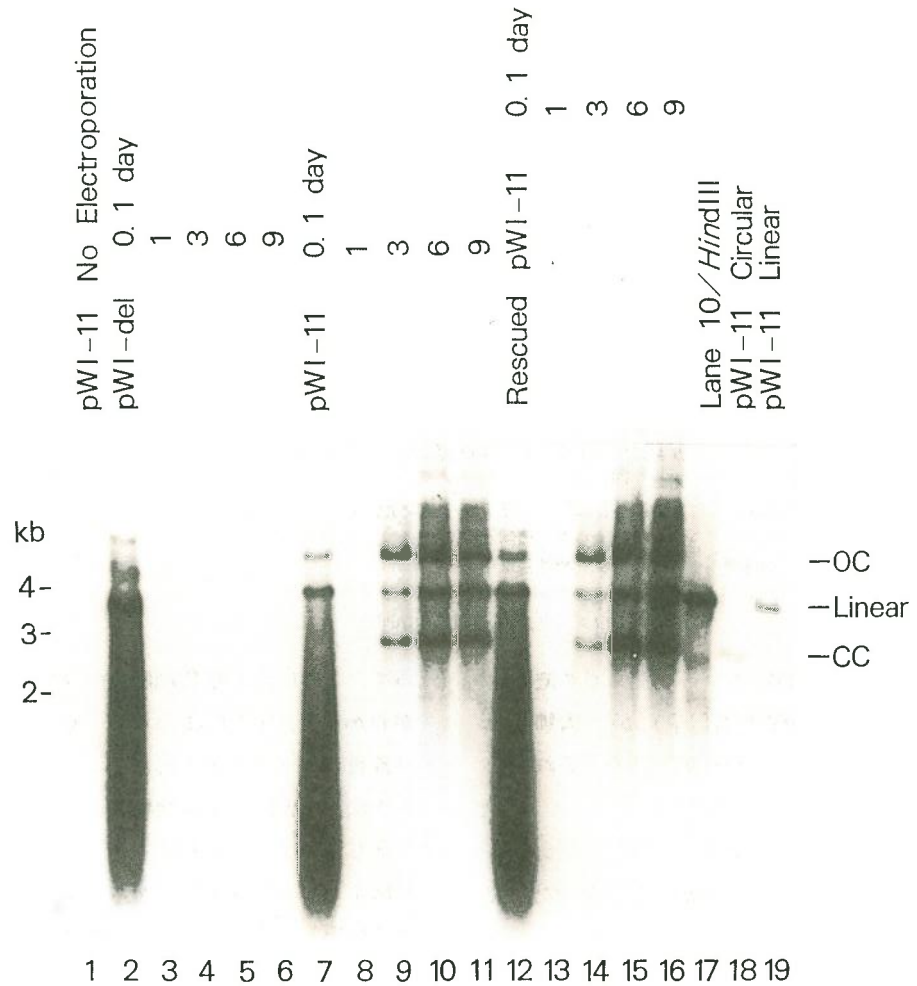


図2 シャトルベクターpWI-11と複製しないベクターpWI-delのトウモロコシプロトプラスト中での消長を示すサザン解析

複製しないネガティブ・コントロールとしては、同じGUS遺伝子を大腸菌のベクターpUC119にクローニングしたプラスミドpUC-GUSを用いた(図3)。その結果、複製しないpUC-GUSのGUS遺伝子は細胞内で一過的に発現したが、やがて分解され、2日目をピークにその活性は減少した。しかし、pWI-GUSのGUS遺伝子は細胞内でコピー数を増し、その活性は日を迫うごとに上昇した。したがって、このベクターを用いることにより外来遺伝子を植物細胞で大量に発現できることがわかった。なお、pWI-11にいったGUS遺伝子は約3kbの大きさがあり、pWI-11はかなり大きな遺伝子を入れても、増えることがわかった。

②特定の遺伝子の発現を抑える

特定の遺伝子の mRNA に相補的なアンチ

センス RNA<sup>6)</sup> や、mRNA を切断するリボザイム<sup>7)</sup> は、特定の遺伝子の mRNA を不活化して、その遺伝子のはたらきを選択的に抑えることが知られている。このベクターにアンチセンス RNA やリボザイムを大量に作らせることにより、効果的に特定の遺伝子のはたらきを抑られえることが期待される。

③相補性を利用して植物遺伝子を単離する

ある遺伝子を発現している植物細胞から mRNA を調製し、cDNA を合成し、このシャトルベクターにクローニングして cDNA 発現ライブラリーを構築する。そのライブラリーを、その遺伝子を発現していない植物細胞のプロトプラストに導入する。プロトプラストの中から、その遺伝子を発現するように変化したものを選択すると、その細胞内には、目的とする遺伝子の cDNA を持つベクター

が複製していると考えられる。そこで、その細胞からDNAを調製し、大腸菌に形質転換することにより、目的とする遺伝子をたちどころにクローニングできる。原理的には、プロトプラストで発現がチェックできる遺伝子であれば、この方法によりきわめて容易に単離できる。

④トランスポゾンを利用した遺伝子タギングにより植物遺伝子を単離する

トランスポゾンに染色体のあちこちにアト・ランダムに転移させ、特定の遺伝子の中にトランスポゾンが転移してその遺伝子が不活化した個体を選び、その個体からDNAを抽出し、トランスポゾンのDNAをプローブにして不活化された遺伝子を単離する技術が遺伝子タギングと呼ばれ、細菌、ショウジョウバエなどでは遺伝子単離の強力な手法である。しかし、Acなど今までよく調べられている植物トランスポゾンの多くは、染色体上のもともとの位置からすぐ近くまでしか跳ばないので、単離できる遺伝子が限られてしまう問題点があった。ところがトランスポゾンを用いたベクターにクローニングしておくことにより、染色体からその近くへでなく、このベクターから染色体へトランスポゾンを跳ばせることができるかも知れない。その結果、どの染色体上の遺伝子でも単離できる新しいタギングの系が作れることが期待される。最近、ジェミニウイルスのDNAにクローニングされたAcが跳ぶことが見いだされた<sup>9)</sup>ので、この戦略は有望といえよう。

植物用シャトルベクターというこの新しい実験系を用いて、このように従来技術的に困難であったさまざまな研究が可能になり、植物遺伝子工学の発展がますます加速されることが期待される。

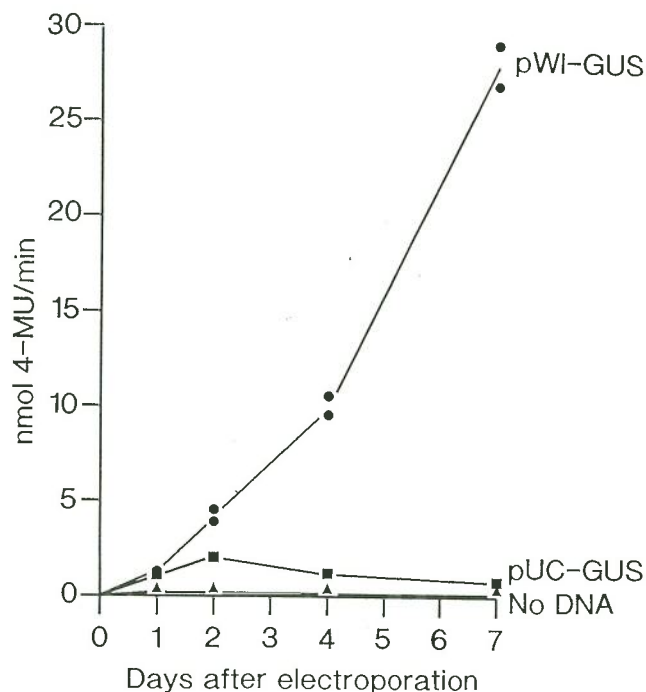


図3 シャトルベクターpWI-11に組み込まれたGUS遺伝子(pWI-GUS)と複製しないベクターpUC119に組み込まれたGUS遺伝子(pUC-GUS)のトウモロコシプロトプラスト中での活性の変化

文 献

- 1) Gasser, C.S. and R.T. Fraley (1989) *Science* 244 : 1293-1299
- 2) Motoyoshi, F. et al. (1988) *Abstracts of 5th Intnatl. Congr. Plant Pathol. Symposium II*, 2-2
- 3) Potrykus, I. (1990) *Bio/Technology* 8 : 535-542
- 4) Ugaki, M. et al. (1991) *Nucleic Acids Res.* 19 : 371-377
- 5) 宇垣正志ら (1990) 第13回日本分子生物学会年会要旨 p. 292
- 6) van der Krol, A.R. et al. (1988) *Biotechniques* 6 : 958-974
- 7) Haseloff, J. and W.L. Gerlach (1988) *Nature* 334 : 585-591
- 8) Laufs, J. et al. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 7752-7756

## 国内情報

# ピジョンピーの鉄型リン酸吸収機構と 半乾燥熱帯の作物生産における役割

農林水産省 農業環境技術研究所 土壌生化学研究室

阿江教治

## はじめに

インド亜大陸のほとんどの面積が半乾燥熱帯に属している。熱帯半乾燥地帯に代表的な土壌もこのインド亜大陸の南部地帯、特にデカン高原とその南に広がっている。すなわち Alfisol と Vertisol である。Alfisol は赤色の土壌で比較的塩基が豊富で、その粘土はカオリナイトが主体である。一方 Vefisol は黒色のモンモリロナイトを主とする重粘質の石灰質土壌で塩基に富む。この土壌は Alfisol と異なり土壌水分保持能が高い。インド亜大陸のこの地帯は北部のガンジス沖積平野ほどの土壌の肥沃度はなく、また灌漑水を容易に得ることができないため、雨季にのみ作物の生産が行われている。作物生産のために投入される肥料の量は穀類やマメ科の生産（野菜などの商品作物には肥料の施用量は多い）に関して少なく、基本的にはわずかな堆肥が主要養分を補うだけである。

インド亜大陸での主要穀類は米、小麦、ソルガムやヒエ類であるが、このインド亜大陸南部の非灌漑地帯ではソルガムやミレットが主な穀類であり、雨季にこれらの穀類がマメ科作物と間作や混作される場合が多い。そのうち Alfisol 地帯ではソルガムとピジョンピーとの間混作がもっとも一般的な組み合わせであり、この作付け体系で数千年にわたり人々の生活を支えてきた。

## 1. Alfisol におけるピジョンピーの リン酸施肥反応

マメ科作物とソルガムなどのイネ科作物とが混作される利点の一つにマメ科の窒素固定

能が挙げられる。マメ科であるピジョンピーは少ない堆肥中の窒素養分を必要とせず堆肥中の窒素はもっぱらソルガムの生産に役立てられる。しかし特定のマメ科であるピジョンピーが Alfisol で主に栽培されている理由については、さらに論議する必要がある。半乾燥熱帯の Alfisol の肥沃度について考えてみると、同じ半乾燥熱帯に存在する Vertisol よりも風化が進み、そのためにより一層肥沃度の少ない Alfisol は、作物にとって必要な窒素のほかリン酸の肥沃度も少ないという欠点がある（カリウムについては、長期の圃場試験の結果からも土壌からの天然供給量がかなりあることがわかっている）。このリン酸肥沃度のすくない Alfisol でピジョンピーはリン酸施肥反応のないことが不思議がられていた。その理由として、i) 作物根系が著しく深いため土壌養分の供給範囲が大きい。ii) リン酸養分吸収に関して VAM (菌根菌) との強い共生関係がある。iii) 特殊なリン酸吸収機構を持つ、など三点の理由が掲げられていた。いずれにしてもリン酸施肥反応を詳細に調べる必要があった。

表 1 には低リン酸肥沃の Alfisol で行なわ

表 1 低リン酸 Alfisol 圃場におけるソルガムとピジョンピーの子実生産量とリン酸吸収量  
(3 連の平均値)

作物	リン酸施用量 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg/ha)		
	0	40	80
	子実生産量 (kg/ha)		
ソルガム	87	2101	2621
ピジョンピー	979	1113	629
	リン酸吸収量 (P kg/ha)		
ソルガム	2.00	7.38	9.76
ピジョンピー	3.18	6.91	7.54



表2 低リン酸 Alfisolにおける各種作物のリン酸施肥反応（ポット試験，乾物生産量 g/pot を示す，3連の平均値）

作物	リン酸施用量 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg/ha)				
	0	20	50	100	200
ソルガム	0.6*	7.8	18.6	46.3	52.3
ピジョンピー	5.3	7.9	7.3	6.5	7.1
ダイズ	1.3*	1.8	3.1	5.5	8.1
トウモロコシ	0.4*	0.8	15.7	44.6	52.9

\*リン酸欠乏のため枯死

れたソルガムとピジョンピーの圃場試験の結果を示した。また、ピジョンピー以外のマメ科作物として雨季に栽培され、しかも作物の生理反応がよく調べられているダイズを選び、作物による根圏の範囲が影響されないポット条件下でのリン酸施肥反応を検討した(表2)。

上記の表によると、無リン酸施用条件下でソルガムは87kg/haの穀実収量しか得られないにもかかわらず、ピジョンピーは929kg/haとかなりの生産量が得られ、また圃場からのリン酸吸収量が多かった。このことは、根圏の拡大や機能およびVAMとの共生関係がソルガムより強いことを伺わせるに十分な証拠である。

ポット試験の結果から、この低リン酸肥沃度のAlfisolでピジョンピーの生育がよいという性質は同じマメ科であるダイズの結果を比較することで理解できる。すなわち、無リン酸条件下のAlfisolではダイズの乾物生産量は1.3g/potとなり貧弱な生育しか示さなかったにもかかわらず、ピジョンピーは5.3g/potでポットでも十分分子実生産まで可能な生育であった。このことから、マメ科の中に特にピジョンピーが低リン酸肥沃Alfisolでソルガムとの間混作のコンパニオン・クロップとして低投入の農業システムで現在まで生産量を低下させずに食糧（すなわち、炭水化物としてのソルガムとタンパク質源としてのピジョンピー）を安定供給させていたかがうなづける。

また、根系の制限されたポット試験の結果から、ピジョンピーの低リン酸肥沃土壌からのリン酸吸収能力は根系の広さによるもので

はないことも明らかになった。

## 2. ピジョンピーのリン酸吸収機構

ピジョンピーのリン酸吸収能力がVAMによるものかどうかという議論については、土壌を殺菌し、そこへVAMを接種しその生育を観察することから結論が出せる。圃場試験と同じ低リン酸Alfisolを用い、殺菌処理を行いその後VAMの接種、非接種区を設けた。VANの接種、非接種にかかわらず、ソルガムは枯死したが、ピジョンピーは生育が維持され（非接種区）、VAM接種区でピジョンピーの生育は促進した。リン酸を少量添加したAlfisolで、ソルガムの生育はVAM接種により旺盛となった。以上の結果、低リン酸Alfisolに生育できる能力はVAMとピジョンピーとの特異的な共生関係というよりは、むしろピジョンピーそのものの性質に由来するものであることが示唆された。

Alfisolに含まれる無機態リン酸の形態別分析の結果では、カルシウム型リン酸；3.8ppm、アルミニウム型リン酸；8.1ppm、鉄型リン酸；51.3ppmで最も多いのが鉄型リン酸であった。このことから、ピジョンピーは鉄型リン酸を吸収利用する能力のあるものと推察した。一般的に水に対する溶解性はカルシウム型リン酸が高く、ついで、アルミニウム型、そして、鉄型リン酸は最も低く、そのため今まで土壌中の鉄型リン酸を吸収利用できる作物はほとんど存在しないものと思われていた。ピジョンピーがこのような能力を持つものかを確認するため、土壌のリン酸をモデ

ルとして、試薬のリン酸の形態をかえて砂—パーミキュライトによる栽培試験を行なった。用いたリン酸源として、CaHPO<sub>4</sub>、AlPO<sub>4</sub>、およびFePO<sub>4</sub>である。ちなみに砂—パーミキュライト混合培地でのpH7.0における可溶性リン酸はCaHPO<sub>4</sub>；44ppm、AlPO<sub>4</sub>；5.1ppm、FePO<sub>4</sub>；2.9ppmであった。作物として、ピジョンピー、ソルガム、ダイズ、トウモ

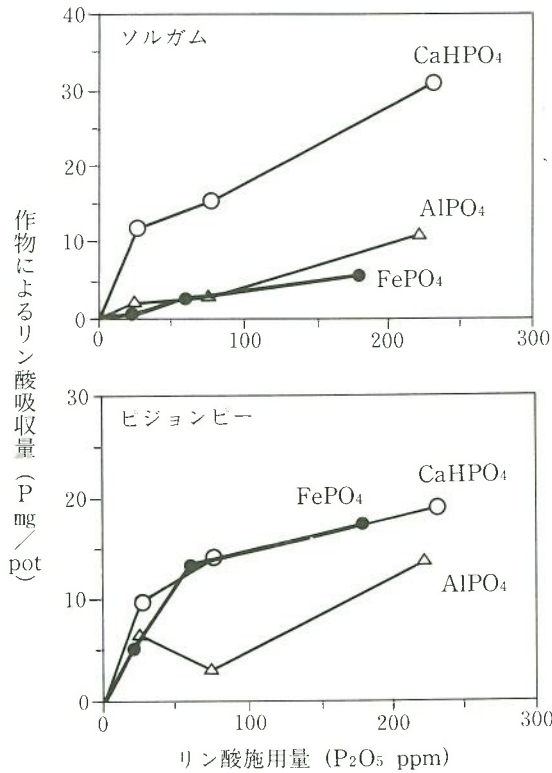
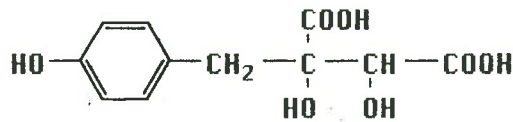


図1 種々のリン酸源を施用した場合のソルガムとピジョンピーの生育反応（開花期）

1)



2)

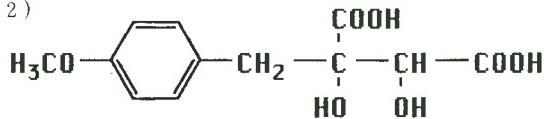


図2 ピジョンピーの根から分泌され鉄型リン酸溶解能をもつ有機酸

- 1) (p-hydroxybenzyl) tartaric acid
- 2) (p-methoxybenzyl) tartaric acid

ロコシ、トウジンビエなどを栽培した結果、ピジョンピーを除くすべての作物の生育は、リン酸の溶解度の高くなる順に応じて生育がよくなり、すなわち鉄型リン酸よりアルミニウム型リン酸施用区がよく、アルミニウム型よりもカルシウム型リン酸施用区のリン酸吸収量が最も高く、またその生育も良好であった。しかしながら、ピジョンピーの場合、アルミニウム区の生育が最も劣り、鉄型リン酸区とカルシウム型リン酸区の生育およびリン酸吸収量はほぼ同じとなった（図1）。以上のことからピジョンピーは他の作物よりも鉄型リン酸を何らかの機能で溶解し吸収利用できる能力が強いものと判明した。

この鉄型リン酸溶解能を検討するため、ピジョンピーの根より鉄型リン酸溶解能を示す画分を分離しその物質を調べた結果、酸性画分にあり、ソルガムやダイズの根から分泌されず、ピジョンピーに特異的にみられる有機酸であることが明らかになった。すなわち、1) (p-hydroxybenzyl) tartaric acid、および2) (p-methoxybenzyl) tartaric acidの二つの化合物（図2）で、前者は piscidic acidとも呼ばれ、すでに1901年 Jamica dogwood中に含まれる麻酔物質として報告されているものであった。そしてこれらの両物質はリン酸鉄のFe<sup>+++</sup>と piscidic acidの酒石酸部分のアルコール基とカルボキシル基とを介してキレート反応をし、その結果リン酸が遊離するものと推察された。

### 3. 半乾燥熱帯の作物生産におけるピジョンピーの役割

すでに述べたように、低リン酸肥沃度の Alfisol にピジョンピーとソルガムは間作や混作として、極めて少量の堆肥を投入することで農業を維持してきた。マメ科作物として、窒素ばかりでなく、難溶性のリン酸をも利用できる、かなりの収量が獲得できることは低投入持続型農業(LISA; Low Input Sustainable Agriculture)の最も基本的戦略であると考えられることができる。また、少量施用された堆肥成分が競合を起こすことなく有効的にソルガ

ムやトウジンビエなどのイネ科作物に利用されるだけでなく、ピジョンピーの根圏で遊離されたリン酸を効率的に利用でき、タンパク質のほか炭水化物の生産の安定供給に寄与しているものと考えられる。

また、半乾燥熱帯地帯における水分の利用については、ソルガムと比較してピジョンピーの根は著しい深根性であるため、土壌水分の利用範囲が異なり、水分環境の面から考えても土壌水分の競合を回避するシステムになっている。

## おわりに

日本は高度成長期以来、集約かつ連作栽培による農業へと変わった。また様々な作物の生産もすべて富栄養条件下での生産を基礎に品種改良や施肥改善技術が作られてきた。しかし、ある種の作物は貧栄養条件下でその特異的な機能を発揮する場合がある。最近、作物や植物のもつ様々な機能を開発するという研究がなされているが、貧栄養条件下における作物の機能の検索についても検討する価値があると期待している。

### 国内情報

## 縞葉枯ウイルス外被タンパク遺伝子を導入したイネの作出

農林水産省 農業研究センター 育種工学研究室  
大槻義昭

### 1. はじめに

昨年11月、京都で行われた日本分子生物学会で、農水省および植工研のそれぞれ独立した研究グループが、組換え DAN 技術によってイネの縞葉枯病抵抗性素材を作るという目的の研究発表を行った<sup>1,2)</sup>。二つの研究グループから出された研究内容はほとんど同じであった。

これらの発表は「イネを用いた遺伝子導入実験が、いよいよ“実用形質を対象として”行われ、成果が出始めた」と、世間の注目を集めることとなった。

以下に、その研究内容を紹介し、解説を加える。

### 2. 作られた“もの”

本文のタイトルに示した“縞葉枯ウイルス外被タンパク遺伝子を導入したイネ”(口絵および図1)である。

縞葉枯ウイルスは、本体が RNA である植物ウイルスの一種で、ヒメトビウンカによっ

て媒介されイネに縞葉枯病を起こす。縞葉枯病は主として関東以西の地域で発生し、イネのウイルス病としては最も大きな被害をもたらす。縞葉枯ウイルス RNA には幾つかの遺伝子が含まれているが、3番目の分節に存在する外被タンパク遺伝子が、ウイルス病抵抗性イネを作るために用いられた。

イネに導入されたのは、その“外被タンパクを作るための遺伝子”であるが、ウイルス本体である RNA の形では植物体に遺伝子導入することができない。そこで外被タンパクを作る RNA の遺伝情報をそのまま DNA に



図1 トランスジェニック イネ



写し取り、イネの染色体に導入して、形質転換イネ＝トランスジェニックイネが作られた。トランスジェニックイネの体内から縞葉枯ウイルスの外被タンパクが作られているのが確認された。

### 3. “どのようにして”作られたか

田圃のイネに注射器で入れたわけでもなく、媒介昆虫の助けで入れたわけでもない。遺伝子導入による形質転換植物の育成はバイオテクノロジー技術の結集によって初めて可能になる。

DNAに含まれる遺伝子情報を大別すると、「どのような構造の物を作れ！」という遺伝子（構造遺伝子）と、その構造遺伝子の働く時・場所・量を調節する遺伝子（調節遺伝子）に分けられる。縞葉枯ウイルスの外被タンパク遺伝子を構造遺伝子とすると、「外被タンパクを作れ！」という調節遺伝子を共にイネに入れることにより、植物体内で縞葉枯ウイルスの外被タンパクを作らせることができる。すなわち、分子生物学の知識を動員して、イネへ導入する遺伝子の構築を行う。

構築された遺伝子を入れるのは、イネの1個の“裸の細胞＝プロトプラスト”である。プロトプラストは培養により細胞分裂し、最終的に完全な植物体を再生する能力（＝全能性）をもっている。プロトプラストを培養して植物体を再生させる培養技術を総括して“プロトプラスト培養系”と呼ばれているが、イネのそのような培養系は既に確立している<sup>3)</sup>。

プロトプラストへの遺伝子導入は、“エレクトロポレーション”と呼ばれる電気的遺伝子導入法が用いられた。遺伝子とプロトプラストの混合液にパルス電流を流すと、プロトプラスト表面の膜に微小な穴が開き、外液中のDNAが細胞内に入り、その穴はすぐに塞がる。

エレクトロポレーションによって細胞内に入るDNA数は多数であっても、ほとんどは細胞質内で消化され、そのうちに無くなってしまふ。トランスジェニック植物育成にとって重要なのは、核内の染色体に組み込まれ

た導入遺伝子である。その確率は普通 $10^{-5}$ 前後と言われ非常に低いとされているが、イネの場合は意外に高く、遺伝子導入されたプロトプラストの $10^{-2}$ 程度と考えられる。それでも100個の細胞当たり1個前後となるので、遺伝子が導入された細胞を効率的に選抜する必要がある。

そのための方法は、外被タンパク遺伝子と抗生物質耐性遺伝子を繋いだものを細胞に入れると、遺伝子が導入された細胞は抗生物質存在下でも分裂・増殖できる。イネではハイグロマイシン耐性遺伝子が用いられた。

プロトプラストに導入された遺伝子は、細胞分裂と一緒に分裂し、最終的に再分化した植物体全体にいきわたる。

遺伝子が導入された一個のプロトプラストをもとに増殖した細胞や再生した植物体はクローンと呼ばれるが、クローンによって遺伝子が組み込まれた染色体上の位置が異なることが考えられ、その影響のためか、クローンによっては再分化能を消失してしまうものもある。遺伝子導入によるトランスジェニック植物を得ようとする場合に、多数のクローンが得られるような実験規模で行う必要がある。

### 4. 遺伝子導入と形質発現の“確認”

「導入した遺伝子が確かに細胞の中に存在しているか」そして、「その遺伝子が植物体内で働き、その“作品”ができているか」を確認して初めて、「トランスジェニック植物を作出した」と言うことができる。

導入遺伝子の確認は“PCR法”あるいはサザンハイブリダイゼーション法で行われた。その結果、クローンによって遺伝子の導入形態は異なり、そのままの形で組み込まれたクローンや、DNAが“ちぎれた状態”で組み込まれているものなど、種々あることが確かめられた。

遺伝子の形質発現は、ウェスタンブロット法で行われ、ここでもクローンによって種々の発現（量・質）があることがわかった（図2）。なかには、DNAが“そのままの形”で取り込まれているにもかかわらず、形質発現

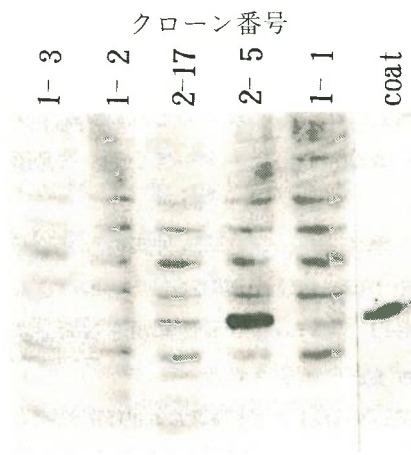


図2 pRSVCHの導入により得られたハイグロマイシン耐性カルスでの外被タンパクの発現

カルスの粗抽出液をSDS-PAGEによる分画後、外被タンパクに対する抗体を用いてウェスタンブロッティングを行った。解析に用いたタンパク量は5 $\mu$ gで、コントロールとして10ngの精製外被タンパクを用いた。

が全く認められない個体も出現した。

## 5. ウイルス病抵抗性は？

この紹介文の読者は「ウイルス外被タンパク遺伝子を入れた植物が、どうしてウイルス病抵抗性になるのか？」と思われるであろう。

その説明には、植物ウイルスの分野で知られている“干渉現象”の理解が必要になる。複雑な現象であるが「動物でみられるワクチン効果のようなもの」と解説しておこう。もちろん植物は、動物と同じ免疫機構をもっていないので同質ではない。植物にとってワクチン効果を持つものとしては“弱毒ウイルス”

や、本研究で取り上げられた“外被タンパク”などが考えられている。イネでの実績は今後の研究を待たなければならないが、タバコやトマト等の双子葉植物では、外被タンパク遺伝子が導入された植物のウイルス病抵抗性が確認されている。

イネにおいて縞葉枯ウイルス外被タンパク遺伝子が導入されたトランスジェニック植物が育成され、形質発現が確認されたことは、すなわち、抵抗性植物が育成されたことにはならないが、今後の発展が期待される。

## 6. 組換え DNA 実験指針との関係

以上の実験は、科学技術庁の“組換え DNA 実験指針”による許可を得た“閉鎖”実験系のなかで実施された。このあとは、“非閉鎖系”実験を経て、屋外試験に進むことになる。

日本における遺伝子組換え植物では、既に農水省において作出された“組換えトマト”を材料に種々の安全性評価試験が実施されている。環境問題に慎重に対処するためにも詳細な検討が行われなければならない。

## 文 献

- 1) 早川孝彦ら(1990) 第13回分子生物学会(講要)296
- 2) 大槻義昭ら(1990) 第13回分子生物学会(講要)296
- 3) 大槻義昭(1990) 実験映像マニュアル イネ・プロトプラスト培養系. 農林水産技術情報協会, 東京

## 国内情報

# バレイショ生澱粉を強力に分解するアミラーゼ

農林水産省 食品総合研究所 素材化技術研究室

谷口 肇

## 1. バレイショ澱粉の特徴

生澱粉の性質はその起源によって大きく異

なっている。バレイショ澱粉とトウモロコシ澱粉はこれらの性質において両極端を形成している。前者は平均粒径が約40 $\mu$ mと最も大

きな澱粉に属し、後者は約 $10\mu\text{m}$ と小さい澱粉に属する。生澱粉は結晶構造を持っているが、その結晶の構造もバレイショとトウモロコシでは大きく異なっている。バレイショ澱粉のもう一つの特徴は酵素的に極めて分解されにくい点である。ラット等にバレイショ生澱粉だけを与えると、腸管に未消化の生澱粉が詰まってやがて死に至ることが知られている。この事からも推測されるように、生澱粉のままではバレイショ澱粉は通常のアミラーゼではほとんど分解されない。この点も、多くのアミラーゼで容易に分解されるトウモロコシ澱粉と大きく異なっている。

オオムギ澱粉は発芽の際にオオムギ自身の $\alpha$ -アミラーゼによって分解される<sup>3)</sup>。バレイショ澱粉もバレイショ塊茎の発芽中に減少する。しかし、バレイショ塊茎中には $\alpha$ -アミラーゼは存在せず、他にこの澱粉を分解し得る酵素は見当たらない。バレイショ塊茎中で生澱粉がどのような機構で分解されるのか、はまだ解決されていない問題である。

## 2. バレイショ生澱粉分解アミラーゼ

バレイショ生澱粉は何故分解されにくいのか、またそれはどのような構造に基づいているのか、これらの点を解明することは極めて興味ある問題である。この問題に対するアプローチとして、我々はバレイショ澱粉を強力に分解できる微生物を検索することにした。その結果、バレイショ塊茎に付着している微生物中に、この澱粉を強力に分解するものが存在することが明らかになり、これを単離同定して、*Bacillus circulans* F-2と命名した<sup>2)</sup>。本菌はバレイショ生澱粉を唯一の炭素源とする培地でよく生育し、この澱粉を約1週間で完全に分解する。この時、培地中に生産されるアミラーゼを精製し、その性質を調べた結果、次のような事がわかった<sup>3, 4)</sup>。

- 1) 本アミラーゼは他のどのようなアミラーゼよりもバレイショ澱粉を強力に分解する。
- 2) 本アミラーゼの分子量は93,000で、これまでに知られている他起源のアミラーゼの平均分子量、50,000に比べて非常に大きい。

3) 本アミラーゼを可溶性澱粉に作用させると、反応の初期にマルトヘキサオース( $G_6$ )が特異的に生成し、次いでこれがマルトテトラオース( $G_4$ )とマルトース( $G_2$ )に分解される。

4) 本アミラーゼは可溶性澱粉などの分解されやすい澱粉を炭素源にした時はほとんど生産されず、バレイショ生澱粉を炭素源にした時最も多く生産される。

図1は、これまでに澱粉分解力が強いとして知られていたブタ膵臓 $\alpha$ -アミラーゼおよび*Streptococcus bovis*  $\alpha$ -アミラーゼ<sup>5)</sup>と本アミラーゼの各種生澱粉に対する作用を比較したものである。トウモロコシやオオムギなどの澱粉に対しては、三つのアミラーゼともほぼ同じ分解力を示す。ところが、バレイショ澱粉に対しては前二者のアミラーゼはほ

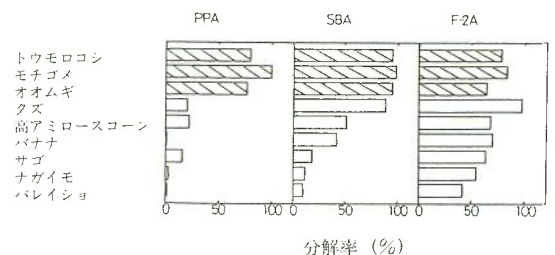


図1 *Bacillus circulans* F-2 アミラーゼ(F-2A), ブタ膵臓アミラーゼ(PPA)および*Streptococcus bovis* アミラーゼ(SBA)による各種澱粉粒の分解

んど作用できず、本アミラーゼのみがこれを分解できることがわかる。図2は、本アミラーゼで分解途上のバレイショ澱粉の走査型電子顕微鏡写真である。トウモロコシ澱粉では粒の表面から内部に多数の深い穴が穿たれて行くが、バレイショ澱粉ではリンゴの皮を剥くように表面から順次分解されていくこと

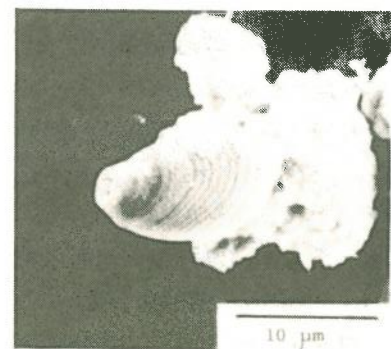


図2 分解途上のバレイショ澱粉粒の走査電顕写真



がわかる。これは両者の澱粉の生合成機構に大きな差異がある事を示唆している。

本アミラーゼをサブチリシンで処理すると分子量が約63,000 (PA)と30,000 (PB)の2本のポリペプチドに切断された<sup>6)</sup>。PA, PBを単離してその性質を調べたところ, PAはアミラーゼ活性を持つがPBは持たないことがわかった。そこでPAと元のアミラーゼの可溶性澱粉および生澱粉に対する作用を比較したところ, 図3に示すように, PAは生澱粉分解力を失っている事がわかった。また, 元のアミラーゼに比べPAは生澱粉への吸着力も失っていた。以上の結果はPBが生澱粉への吸着部位を構成し, PAはこれを失ったがために生澱粉への吸着能を失い, 従って, 生澱粉分解力を失った事を示唆している。

### 3. バレイシヨ生澱粉分解アミラーゼのクローニング

上のような推論を実証する一つのアプローチとして*B. circulans* F-2の生産するアミラーゼ遺伝子を大腸菌中にクローニングし<sup>7)</sup>, その構造解析を行なった。この遺伝子は2508塩基対からなり, 従って酵素タンパク質は836アミノ酸からなると考えられる。その配列を*B. circulans* F-2からの精製酵素の配列と比較した結果, N末端側から34個のアミノ酸がシグナルペプチドを形成していることが判明した。 $\alpha$ -アミラーゼにはその起源に関わらず4個の保存領域が存在し,  $\alpha$ -アミラーゼの活性中心を形成している事が知られている。このような配列が本アミラーゼにも存在するかどうか調べたところ, 図4に示すように, N末端側から中心部にかけてこれら4個の保存配列と思われる配列が見い出された。中央からC末端側にかけて, 長い, 機能不明の領域が存在することになるが, 図4に示すように, この部分にセリン, スレオニンに富んだ領域が存在する事がわかった。生澱粉分解力のあるグルコアミラーゼの場合, 触媒部位とは別に生澱粉吸着部位を持つことが知られており<sup>8)</sup>, その部位にはやはりセリン, スレオニンが多い事がわかっている。これらの

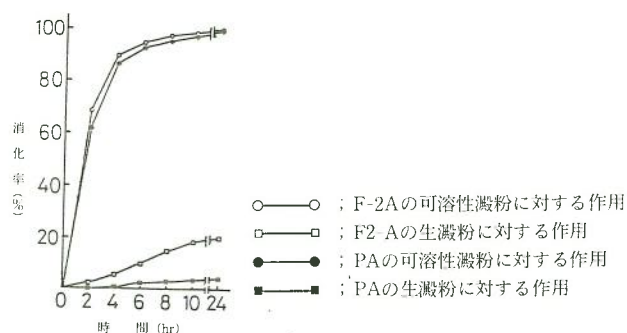


図3 生澱粉分解アミラーゼ(F2-A)および限定分解ペプチド(PA)の可溶性澱粉と生澱粉に対する作用

例から類推して, 本酵素のこの部位もまた生澱粉への吸着に大きな役割を果たし, この部位が存在するために本酵素は高い生澱粉分解能を示すものと推測される。

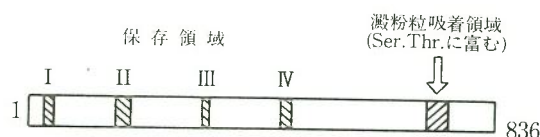


図4 *Bacillus circulans* F-2 アミラーゼの構造

今後, さきに述べたPA, PBのアミノ酸配列を決定する事により, このような推測を証明して行きたいと考えている。

### 文 献

- 1) Maeda, I., J. Nikuni, H. Taniguchi and M. Nakamura (1978) *Carbohydr. Res.* 42 : 2433
- 2) Taniguchi, H., F. Odashima, M. Igarashi, Y. Maruyama and M. Nakamura (1982) *Agric. Biol. Chem.* 46 : 2107
- 3) 谷口肇・鄭萬在・丸山芳治・中村道徳 (1982) *澱粉科学* 29 : 107
- 4) Taniguchi, H., M.-J. Chung, N. Yoshigi and Y. Maruyama (1983) *Agric. Biol. Chem.* 47 : 511
- 5) 溝上恭平・小崎道雄・北原覚雄 (1978) *澱粉科学* 25 : 132
- 6) Kim, C.-H., G.-H. Zhang, Y. Maruyama and H. Taniguchi (1990) *Agric. Biol. Chem.* 54 : 2767
- 7) Kim, C.-H., H. Sata, H. Taniguchi and Y. Maruyama (1990) *Biochim. Biophys. Acta.* 1048 : 223
- 8) Hayashida, S., S. Kunisaki, M. Nakao and P. Q. Flor (1982) *Agric. Biol. Chem.*, 46 : 1947

## 文献情報

## 抗チューブリン除草剤トリフルラリンによるレーシマニア症の抑制

レーシマニア症は発展途上国で問題となっている重要な寄生性原生動物による病気である。しかし、その化学療法は充分なものではない。チューブリンはレーシマニア症病原体 (*Leishmania mexicana amazonensis*) に多量に存在するタンパク質であることから、抗チューブリン剤の検索がなされている。チューブリン遺伝子の解析からレーシマニアのチューブリンは、動物由来のものよりトリパノゾーマや植物由来のものに相同性が高いことが知られている。レーシマニアの $\beta$ -チューブリンのアミノ酸配列はヒトの $\beta$ -チューブリンに対し80%の相同性を示すが、トリパノゾーマに対しては93%の相同性を示す。トリパノゾーマの $\beta$ -チューブリンはユーグレナの $\beta$ -チューブリンに対して95%の相同性を示し、ユーグレナの $\beta$ -チューブリンはダイズの $\beta$ -チューブリンに対して93%の相同性を示すことが知られている。

トリフルラリンは、ジニトロアニリン系の除草剤であり、バラやクラミドモナスのチューブリンに結合する。一方、ラットに対する毒性は低い。これらのことから、著者らは、この微小管形成阻害型除草剤のレーシマニアに対する阻害活性及びその作用を調べた。その結果、トリフルラリンの*L. m. amazonensis*に対する活性は生活環によって異なることがわかった。

- 1) Promastigote の増殖阻害〔べん毛期、生体外で増殖 (砂蠅の腸内)]  
トリフルラリンは、 $2.5 \mu\text{M}$ で80%、 $5.0 \mu\text{M}$ で95%の promastigote の増殖阻害効果を示した。これは、クラミドモナスのべん毛の再生を阻害する濃度 (文献値) に匹敵する。
- 2) Amastigote の増殖阻害〔非運動性期、生体内で増殖 (哺乳動物のファゴリソゾ

ーム内)]

ネズミのマクロファージに promastigote を感染させ、amastigote になる過程は、トリフルラリン  $5 \mu\text{M}$  で50%の阻害が認められた。また、トリフルラリンは複製型 amastigote の増殖を抑えるが、 $50 \mu\text{M}$ でも静止型の amastigote に影響を与えなかった。

- 3) Amastigote から Promastigote への分化マクロファージより amastigote を単離し、培地で生育させると promastigote への分化がおこるが、この分化はトリフルラリン  $0.5 \mu\text{M}$  で30~80%阻害され、この過程が最も高い感受性を示した。一方、ヒト、ネズミの培養細胞の増殖にトリフルラリンは $50 \mu\text{M}$ においても顕著な阻害効果を示さなかった。

つぎに、トリフルラリンの阻害作用のメカニズムを調べるために、チューブリンとトリフルラリンの結合活性を検討した。すなわち、*L. m. amazonensis* の promastigote のチューブリンとラット脳チューブリンを部分精製し、 $30 \mu\text{g}$ および $40 \mu\text{g}$ のチューブリンに対し $3 \mu\text{g}$ の $^{14}\text{C}$ ラベルトリフルラリン ( $3\text{mCi}/\text{mmol}$ ) を加え、チューブリンタンパクに結合した放射能活性を調べたところ、レーシマニアのチューブリンにおいては  $258\text{dpm}/30 \mu\text{g}$ 、 $566\text{dpm}/40 \mu\text{g}$  の結合放射能活性が認められたが、ラットチューブリンにおいては、 $71\text{dpm}/30 \mu\text{g}$ 、 $51\text{dpm}/40 \mu\text{g}$  であり、タンパク質を含まない対照値 ( $52\text{dpm}$ ) とほぼ同等であった。このことより、トリフルラリンはレーシマニアのチューブリンに特異的に結合することが示唆され、そのレーシマニアに対する選択的な阻害作用は、トリフルラリンのレーシマニアと哺乳動物のチューブリンに対する結合活性の差異に起因すると考えられる。

トリフルラリンのような除草剤は、経済的であるとともに人間や家畜に対する安全性も高いと考えられ、有効な抗レーシマニア症剤や抗トリパノゾーマ剤のソースとなりうる可能性があると思われる。

(抄訳 山口 勇——理研)

Inhibition of leishmanias but not host macrophages by the antitubulin herbicide Trifluralin

Chan M. M.-Y. and D. Fong

Science 249 : 924 (1990)

文献情報

タバコ属の自家不和合性には花粉rRNAの分解が関与

高等植物における自家不和合性は、花粉と雌蕊との相互反応にもとづく細胞間認識反応として注目されている。これは、古くから知られている自家不和合性現象の謎を分子生物学的観点から明らかにしようとする基礎的研究とともに、自家不和合性遺伝子を導入することによって、例えば自家不和合性のイネを作出し F<sub>1</sub> 採種を効率化することなど、農業への実用的な応用の可能性を秘めているためでもある。

配偶体型の自家不和合性を示すナス科植物では、花粉に存在する S-複対立遺伝子が、雌蕊に存在する 2 個の S-複対立遺伝子のいずれかと同一である場合には、花粉管の伸長が阻害され受精・結実に至らない。タバコ属植物 (*Nicotiana glauca*) の花柱組織において、S-複対立遺伝子に特異的な糖タンパク質がすでに見出されている。このタンパク質をコードする cDNA の塩基配列から S-糖タンパク質は RNA 分解酵素 (RNase) の一種であることが示唆され、実際に S-糖タンパク質が RNase 活性を有することが認められている。この事実から、自家不和合性の発現において RNase がどのような機能を果たしているのかという疑問が生ずる。この問題を解くためのアプローチとして行なった本研究から、花粉の rRNA が S-遺伝子特異的に分解されるという興味深い実験結果が得られた。

*N. glauca* では、和合および不和合交配のいずれにおいても柱頭上で花粉が発芽し花粉管

は花柱の通導組織に侵入するが、交配後 48 時間ほどで不和合交配における花粉管は柱頭下 5~10mm の花柱内においてその伸長が停止する。そこでまず、花粉内の RNA を <sup>32</sup>P でラベルするため、開花最盛期の植物体を <sup>32</sup>P の存在下で育てたのち花粉を採取した。この <sup>32</sup>P でラベルされた花粉を和合および不和合組合せの柱頭に交配し、48 時間後に柱頭および花柱部分からそれぞれ RNA を抽出しアガロース電気泳動を行なった。その結果、不和合交配の花柱から得た花粉由来の 18S および 28S-rRNA は低分子 RNA のスメアとして観察され、花粉 rRNA の顕著な分解が認められた。またこの低分子分解産物は交配後の時間経過とともに蓄積した。一方、和合交配の花柱や柱頭から得た花粉 rRNA ではこのような分解は見られなかった。さらに、<sup>32</sup>P でラベルされた花粉 RNA のうち tRNA および mRNA 分画についても同様な電気泳動法によって調べられたが、不和合組合せの花柱においてもこれら RNA 種の分解は認められていない。これらの実験結果から配偶体型の自家不和合性は、花柱内で花粉管が伸長する過程において花粉由来の rRNA が花柱に存在する S-RNAase によって特異的に分解されるために引き起こされる現象であると考えられる。花粉の発芽時や花粉管伸長時にはリボソーム RNA 遺伝子の転写が起こらないことが、<sup>32</sup>P の取込み実験から明らかにされている。したがって、花粉 rRNA が分解されることによって、花粉管内におけるタンパク質合成が低下しその結果花粉管伸長が停止するものと思われる。この考えは、花粉管伸長がタンパク質合成阻害剤 (cycloheximide) によって阻害されるが RNA 合成阻害剤 (actinomycin D) によっては影響を受けないとする実験結果ともよく一致している。

以上のように *in vivo* における実験では、花粉と雌蕊の S-遺伝子が同一である交配組合せ (不和合組合せ) の場合にのみ花粉 rRNA の分解が認められたことから、この RNA 分解は S-遺伝子特異的であることを物語っている。しかしこのような S-遺伝子特異性は、*in vitro* における実験では認められていない。



例えば  $S_6$  花粉の RNA は,  $S_6 S_6$  個体および  $S_2 S_2$  個体の花柱から抽出したいずれの S-RNase によっても同様に分解され, 微生物由来の非特異的な RNase (RAase A) と類似した分解パターンを示した。また, コムギ胚リボソームの rRNA も同様にこれら S-RNase によって分解された。これらの事から, それぞれの S-RNase に対して基質特異性があるとは考えられない。 *in vivo* で認められる自家不和合性の S-遺伝子特異性がどのような機構でもたらされているのか, 現在のところ不明であり残された大きな問題の一つである。仮説として, S-RNase が花粉管内の細胞質因子に到達する過程において, S-遺伝子特異性が現れるのではないかと考えられる。

植物の自家不和合性には, この論文で紹介したような配偶体型自家不和合性と, アブラナ科やヒルガオ科に見られるような孢子体型自家不和合性の二つのタイプがあり, 後者の自家不和合性についても分子生物学的機構の解明が日本とアメリカの研究者を中心にして進められている。互に競合する形で, この分野の研究が大いに発展するものと期待される。

(抄訳 神山康夫——三重大生資)

### Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA

McClure, B.A., J.E. Gray, M.A. Anderson and A.E. Clarke

*Nature* 347: 757, 25 Oct. 1990

#### 文献情報

### 正常な成長過程の細胞死をひき起こす遺伝子

生物の成長過程では, 老化衰退の場合以外に多くの細胞が計画的に死滅する。成長過程におけるこの細胞死は個体の成長に様々な形で役立っている。例えば, 胚の成長過程で体節の形成時に個体に不要になった細胞を取り除く場合や, 末梢および中枢神経系の神経細

胞数の調節にも細胞死が関係している。また, 両生類や昆虫でも生育過程で不要になった組織での細胞死が知られている。

計画的な細胞死は様々な場合にみられるが, その機構はほとんど解明されていない。ニワトリの胚形成期における運動ニューロンの衰退は, ニューロン間の筋肉の争奪によるとされており, 最近, その筋肉由来の誘導因子が抽出され解析されている。線虫 (*Caenorhabditis elegans*) では計画的な細胞死を誘起する原因は不明だが, ニューロンの正常な減少がみられない変異体が得られており, 遺伝学的な解析によってそのメカニズムが明らかになるものと思われる。

*Lepidoptera* (蝶蛾類, 鱗翅目) の inter-segmental muscles (ISMs) を用いた実験系もこの種の細胞死の研究に役立つと思われる。ISMs は直径約 1 mm, 長さ約 5 mm の筋繊維からなり, この筋繊維が集まり膜状になって幼虫の各節間をつないでいる。蛹化後に前後二つずつの ISMs が消失し, 羽化の 3 日前までに残りの ISMs もその量が 40% に減少する。残った ISMs は羽化の際に使われるが, その後は不要になり, 36 時間以内に消失する。

tobacco hawkmoth (*Manduca sexta*) では, 20-hydroxyecdysone (20-HE) の減少が引き金になって ISMs の衰退と消失がおきる。すなわち, 20-HE が蛹化後 15 日に一定値以下に減少し, ISMs の衰退が始まる。20-HE を人工的に注入し 20-HE の減少をある程度抑えようと, ISMs は消失せずにその減少だけがみられる。通常は蛹化後 18 日で 20-HE がさらに減少し, ISMs の消失が始まる。この消失は一度始まると, 外部から 20-HE を与えても止まることはない。

ISMs の衰退の説明として, それらを構成するタンパクの転写・翻訳量の減少のために分解が合成を上回り, ISMs が減少する可能性が考えられた。著者らは *M. sexta* に [35S] methionine を与えてそのタンパク合成を 2 次元電気泳動により検討した。その結果, 蛹化後 17 から 18 日にかけて数種類のタンパクの合成が減少し, 一方で, 別な数種類のタンパクの合成が増大することを明らかにした。

蛹化後17日に 20-HE または actinomycin D (Act D) を与えると ISMs の消失が抑えられる。著者らはこの場合の *de novo* のタンパク合成をみるために、蛹化後17日の幼虫に 20-HE または Act D を与え、その24時間後に [35S] methionine を与え、2次元電気泳動でそのタンパク合成パターンをみた。得られたパターンは、無処理の蛹化後18日のパターンとはほぼ同様で、無処理の場合に減少したタンパクは、これらの薬剤処理を行った場合でも減少していた。しかし、無処理の場合にみられた数種のタンパクの増加は ActD または 20-HE を処理した場合にはみられず、これらのタンパクが ISMs の衰退に積極的に関与していることが示唆された。

ISM s から RNA を抽出し *in vitro* でタンパク合成を行ったところ、蛹化後18日の mRNA で、それまでは見られなかったタンパクが検出されたが、これらのタンパク合成も 20-HE 処理により検出されなくなった。さらに著者らは蛹化後18日の ISMs から mRNA を抽出して cDNA を作成し、スクリーニングにより蛹化後15日より18日の cDNA により強くラベルされるクローンを選出した。これらの cDNA をプローブにノザンブロットを行い羽化の前後に反応が現れることを確認し、また、20-HE 処理が行われた場合には反応が抑制されることを示した。

これらの結果から、ISM s の衰退・消失はそれらを構成するタンパクの合成が減少するのではなく、なんらかの遺伝子の発現が関係しているものと考えられ、著者らはそれらの遺伝子の翻訳産物が ISMs の衰退・消失の引き金になっていると考えている。

(抄訳 河邊邦正——東北大農)

#### Gene activation is required for developmentally programmed cell death

Schwartz, L.M., L. Kosz and B.K. Kay  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 6594-6598  
 (1990)

#### 文献情報

### 寄生顕花植物の色素体遺伝子よりの光合成および色素体呼吸鎖遺伝子の喪失

光合成は植物体を最もよく特徴づける性質であり、その機能は色素体遺伝子により制御を受けているが、寄生性の顕花植物の中には光合成能を全く欠くものもある。これらの植物では、クロロフィルが無かったり、光合成関連の酵素群を欠いたりするが、これまで遺伝子レベルではどうなっているのかの知見は全く無かった。クロロフィルを全く持たず、光合成能も全く無いような寄生植物は、完全寄生植物とよばれているが、このような例の一つにハマウツボ科の *Epifagus virginiana* があり、ブナの根に寄生することでブナノシズクを意味するような英名 Beechdrop を持っている。炭素源は宿主に完全依存であるものの、この植物体にも色素体があり、そこにでんぷんの蓄積が見られることもある。

本研究ではタバコの色素体ゲノムの全てをカバーする83個の遺伝子断片をプローブとしてフィルターブロットハイブリダイゼーションで *Epifagus* の色素体遺伝子の構造と機能の解析を行なったが、多くの色素体 DNA で見られるようにリボゾーム RNA 遺伝子領域で逆位の反復配列 (IR) はあるものの、そのゲノムサイズはこれまで知られている 1,000 種余の陸上植物の中では最も小さく、通常色素体ゲノムサイズはおよそ 130kb であるのに対し、わずか 46kb であった。

タバコその他、比較的系統的に近縁のゴマノハグサ科のキンギョソウと *Striga asiatica* を調べたが、後者は、半寄生植物とよばれ、ある程度光合成能を持っている。光合成に関連した遺伝子をプローブにして、これらの植物を調べたところ *Striga* を含め光合成をする植物ではいずれも強く反応しこれらの遺伝子の存在が示された。*Epifagus* では、IR 領域は強くハイブリダイズするものの、リボゾームタンパク質や他の読み枠 (ORF) では弱

かった。なお、22個の光合成関連遺伝子を調べた中では *psaA* 遺伝子のシグナルが見られたが、遺伝子のマップでは見られなかったのでミトコンドリアゲノムへ入り込んだ遺伝子のシグナルを拾っているものと考えた。

これまで色素体遺伝子の中で機能がわかっていないものは、10数個を数える *ndh* 様の遺伝子はその大部分であるが、ミトコンドリアや核の NADH デヒドロゲナーゼとアミノ酸配列で類似性があるので、葉緑体のいわゆる葉緑体呼吸に関係するものと思われる。この遺伝子は相当に広く分布しているのに、*Epifagus* ではほとんど検出できず、わずかに *ndhB* が IR 領域に弱いシグナルを示すのみであった。ミトコンドリア呼吸は、寄生植物でも働いていると思われるので、*Epifagus* でこの遺伝子が見られないということは、この遺伝子がミトコンドリアの NADH デヒドロゲナーゼの成分として働いていることは考え難く、むしろ光合成に関連しているものと思われる。

*Epifagus* の色素体の 16S, 23S rRNA の転写産物やタンパク質の mRNA は、ノーザンブロットで検出できたが、細胞全体の RNA 量からするとタバコ葉などと比較して 50分の1程度と少なかったのに対し、ミトコンドリアの rRNA ではそう大差がなかった。予想されたことであるが *rbcL* や *psbA* の転写産物は全く検出できなかった。

このことから、我々は、光合成および葉緑体呼吸遺伝子は、*Epifagus* の祖先が寄生を始め、従属栄養をすると同時に急速に無くなっていったと考えた。完全寄生植物の *Epifagus* と半寄生植物の *Striga* が分かれたのは化石の証拠からして五百万年より以前で、五千万年を遡らないと思われる。どちらの年代を取っても通例の ptDNA に見られるよりはるかに速い変化といえるであろう。このような進化の動態は、ミトコンドリアや核遺伝子が

遺伝子を蓄積する傾向にあり、機能しない遺伝子もそうすぐには失わないのに比べて大変な違いである。*Epifagus* では *psaA* は現在色素体遺伝子には見られないが、機能しない遺伝子が色素体の外でより、内のほうでずっと速く無くなるということを現わしているのであろう。

これに対し、光合成をしない藻類である形態的にユーグレナに似た *Astasia longa* では光合成遺伝子の喪失がこれとは異なり興味ある対比を示した。*Astasia* の色素体 DNA は、73kb でユーグレナの ptDNA と構造的に似ているが、光合成の遺伝子のいくつかを欠いている。*Epifagus* と異なるのは、*Astasia* には *rbcL* 遺伝子があり発現していることである。*Epifagus* では不必要な遺伝子の喪失がより先まで進行したということも考えられるが、むしろ *Epifagus* では見い出せないとか、あるいは他の遺伝子産物により補われている、*rbcL* の遺伝子産物がなお *Astasia* では機能しているということであろう。完全寄生のネナシカズラ属 *Cuscuta* で *rbcL* や *rbcS* の転写産物が見られるのもそのいずれかであろう。

それでは、なぜ *Epifagus* は色素体遺伝子を保持しているのだろうか？ 翻訳装置に関する遺伝子が特に選択的に残され転写されていることからして、この遺伝子は、光合成に関係しない代謝系を維持するために残されているものと思われる。これらの中には、色素体にコードされる *ndh* 遺伝子を除く、これまで未知の機能を担う ORF が含まれと思われる。

(抄訳 長田敏行——東大理)

#### Loss of photosynthetic and chlororespiratory genes from the plastid genome of parasitic flowering plant.

dePamphilis, C.W. and J.D. Palmer

*Nature* 348 : 337, 22 Nov. 1990

海外便り

## カリフォルニア大学に留学して ——発光遺伝子を用いた細菌の検出と追跡——

農林水産省 農業環境技術研究所 微生物特性・分類研究室

畔上耕児

ある特定の細菌が1mm四方の中に存在しているか否かは、従来の方法である程度容易に知ることができる。しかしながら、細菌は感知できるほどのシグナルを出さないで、また農業生態系の中には他の培養できていない細菌や種名もついていない細菌が無数に生息しており、1植物体あるいは1m四方の土の中にいるか否か、どこにいるかを知るには、たとえるならば、砂浜で投げ出された1粒の砂を検出するほどの作業が必要になる。何億何兆という数の細菌(約 $10^8$ )をばらまけば、どこに潜んでどのような行動をするのかといった程度のことは予想できるようになりそうなものであるが、通常大部分が速やかに死滅してしまい、長期間にわたって追跡するのは困難である。完全に死滅してしまうならば検出の必要は生じないが、細菌は1細胞であっても急激に増殖してふたたび何億何兆という数になりうる。このために、1細胞でも検出できなければならない。筆者は、科学技術庁長期在外研究員として、1989年10月から1年間、カリフォルニア大学デイビス校においてこの問題に取り組む機会を与えられた。

### 1. レット・ゼア・ビー・ライト

近年、細菌やホタルの発光遺伝子がクローニングされ、細菌検出の手段として、また他の遺伝子の生物への導入・発現をモニターするレポーターとして、あるいは特殊な遺伝子しか分解し得ない微量な物質の存在を感知するためのセンサーとして用いられ始めている。デイビス校のC.I. Kado教授の研究室では、発光遺伝子を用いて *Xanthomonas* や *Agrobacterium* 等の遺伝学的研究が進んでいた。

筆者は、イネ体の表面に普遍的に存在する *Erwinia ananas* (従来 *E. herbicola* に分類されていたものの一部) に、細菌の発光遺伝子(正確にはルシフェリンとルシフェラーゼをコードする遺伝子群)を組み入れることに取り組んだ。デイビスでの生活は快適であったが、まずほかの仕事から始めていたので、表題のテーマのことを考えると青ざめた日々であった。遺伝子を導入した翌日、シャーレを持って暗室に入ると、冬の夜空に星がきらめいているかのように、細菌のコロニーが光を放っていた。レット・ゼア・ビー・ライト! 細菌を光らせること、これまで意図してきたことを一言でいうとこれだ、と思い当たった(レット・ゼア・ビー・ライトとは、カリフォルニア大学の徽章にある句で、これには書物と星からの光芒も描かれているので、おそらく、先人の蓄積に学び、研究し、世のためにという、もっと崇高な精神を現わしているものと思われる。筆者は先人の蓄積もさることながら、DNAに刻まれてきた生物のきわめて巧妙なしくみも利用させてもらった)。筆者はホタルイカなどから発光細菌を分離したことがあったので、細菌の発光がどんなものであるかは知っていたが、それでもこの神怪(くすし)き歌を歌っているかのように妖しくきらめいている神秘的な光にしばらく見とれてしまった。

しかしながら、ほっとしたのも束の間、この発光能はすぐに失われてしまった。次なる目標はスタビリティであった。Kado研究室には、研究者の汗と意匠が結晶化している遺伝子あるいはプラスミドのコンストラクトが多く残されており、それらを使って、さらに大学院生やポスドクの人たちの多くの助言を



受けて、発光能が安定的に保持され発現する菌株を得ることができた。

次に、果たしてどの程度少数の細胞を検出できるかを検討した。組換え菌をイネなどに接種して、新しく購入されたばかりの2次元フォトンイメージアナライザーを使って観測し、百数十の1~2mm四方の植物片から分離を行うと、1細胞検出(ワン・セル・ディテクション)が可能であることがわかった。すなわち、1時間当り11以上のフォトンがカウントされる点からは、常に1コロニーあるいはそれ以上の発光細菌が得られた。次なる問題は、どの程度長期間追跡できるかであった。この問題を解決することによって、接種後5か月目でも検出することができた。この結果 *E. ananas* の動態が明らかになった。発光遺伝子を導入して検出するという方法は、自然にいる細菌を検出するものではないが、きわめて高感度であり、分離という操作を行わずに存在場所をつきとめられるというメリットがある。これによってこれまで知られていなかった多くの細菌の動態が解明されるであろうと思われた。

## 2. 中央平原の中の小さなデイビス市

カリフォルニア州は西に低い海岸山脈、東に高いシエラネバダ山脈が南北に走っている。デイビス市は、その間に広がる広大な中央平原の中にある人口4万数千の大学町で(半数がカリフォルニア大学の学生)、サンフランシスコ市街から車で1時間半の所にある。ここからさらに内陸へ20分位走るとサクラメントがある。中央平原一帯は地中海性気候で、冬は雨と濃霧の毎日であるが、それ以外の時期はほとんど降雨がないため、5月に入るとグラス類が枯れ上がってくる。日本のようなみずみずしい緑はないが、ハイウェイを降りて町の中に入るとスプリンクラーの水で緑が豊かである。夏には気温が45℃を記録し、建物から出るとつぼに入ったような暑さを感じるが、湿度が低いのでなんとかしのぐことができる。また、夜の外気は肌寒さを感じるほど涼しいこともしばしばであった。

デイビス到着半月後の午後5時すぎ、サンフランシスコ大地震に遭遇した。デイビスでの震度は4位で、被害はなかった。あるいは遭遇するかもしれないとは感じていたが、これほど大きな地震を経験しようとは夢想だにできなかった。

## 3. 人々の高いモラルは町の財産

デイビスでもっとも感心したことは、住民のモラルの高さである。多種多様な背景と価値感を持った人々が行き交っているにもかかわらず、皆車の運転マナーが非常に良い(ウインカーを出さないで右左折する人がいることが唯一の欠点であったが、それをして安全な運転であった)。互いにほんのちょっと譲りあうだけのことであるが、こんなにもお互いに気持ち良く暮せる町があったのかと思わざるを得なかった。また、町の中には空缶がひとつも落ちていなかった。皆が社会の約束事の大切さを認識し、守っている大人の国だなあと感じた。また、見ず知らずの人からも幾多の親切を受けた。

デイビス市では、人口増加速度が市議会によって規制されている。人口増を低く抑えようとする団体から署名を求められたとき、複雑な思いがした。しかし、この町の清潔さ、快適さがわかるにつれて(問題点も見えてきたが)、現住民が、自らの祖先が営々と築いてきたこの住みよい町が、急激な人口増加によってゴミだらけのすさんだ町になってしまうことに対して恐れを抱いても当然のこのように思われてきた。人々の高いモラルは、この町の何物にも代えがたいもっとも大きな財産であると思われた。人口増加に関してはさておき、デイビスの人々の生活が永遠なれと願ずにはいられない。

この運転マナーの良さは何によるものか。ここにはそれだけのゆとりある人々が生活しているから、治安がいい町なので警察官は交通違反をよく取り締まっているから、あるいはハイウェイでとばせるので小さな町中に入るとゆっくり運転しようという気持ちになるから、等々多くの要因が考えられる。しかしむ

しろ、相手の立場を考慮する余裕と度量のない運転をすることはひどく醜く恥ずかしいことであると皆が意識していることの方が大きいように思われた。さらにデビスでは、考えずに隣にあわせるというのではなく、一人ひとりが自分なりにあるべき姿を常に強く意識して、それに従おうという態度であった。これが紳士的態度の根源であろう。車は、頭の中の分子レベルの変化を増幅して、非力な人間の大きな欲望を満たしてくれる機械であるが、同時に内面をも増幅してさらけ出してしまう機械でもあるということを銘記したいものである。

スペースがなくなってしまったが、まずデビスは自転車の多い町であると触れておくべきであったかもしれない。

#### 4. サイエンスは我が職業に非ず、我が人生

カリフォルニア大学デビス校は今世紀初めに建てられ、最初はバークレー校の学生の農業実習など限られたことしか行われていなかったが、1951年以降急速に拡大し、1959年に総合大学となっている。Kado 研究室が所属する植物病理学部は二十数名の教授あるいは準教授と、百数十名の学生、ポスドクからなる大世帯で、また同じ建物には微生物学部の十名の教官の研究室があり、微生物研究に必要なものはひとつおそろっていた。Kado 研究室は、十数人の世界中から集まってきた大学院生とポスドクの人々で活気に満ち、大変刺激的であった。研究室の一角には、

“Science, it's not my profession. It's my life!” というステッカーがはってあった。彼らは夕食をアパートでとった後、また研究室に戻って深夜まで研究していた。博士号取得のため、あるいは祖国を後にした人たちは業績を上げるため、一所懸命に研究に打ち込んでいた。このステッカーや彼らの生活に現れている荒い鼻息、意気込みこそが、無から有を生じる研究にまず必要なものであろうと感じ入った。

しかし、これは静かなる DNA の叫び声でもあると思えてきた。研究者は、多かれ少なかれ宇宙や生命の神秘に対する好奇心に駆り



Kado 先生宅でのパーティーで

立てられた者であり、それを問い続けることが我が人生という意味であろう。彼らは強いプロ意識を持っている一方で、何につけ楽しむ術を心得ていた。

最後に、留学の機会を与えて下さった皆様、その際にお世話になった皆様、拙文をものする機会を与えて下さった皆様に、この場をお借りしてお礼申し上げます。

特別情報

## 細胞育種技術の進捗状況

1990年度

農林水産省 農業生物資源研究所 細胞育種部

中島 卓

この資料は、1990年12月15日現在の細胞育種技術の進捗状況について、農業研究センター、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—

- 農林水産技術会議事務局では、平成2年度の農林水産研究文献解題として「植物バイオテクノロジー」を取りまとめている。今回の進捗状況では、この解題での調査を加味してこれまでの技術評価についても再検討した。したがって一部に前年度の評価より技術到達度が後退したものがあるが、より正確な情報になることを期したつもりである。
- 引続き組換えDNA技術の進展がみられたが、トウモロコシやダイズの形質転換植物体作出をはじめパーティクル・ガン法による成果が目される。

&lt;用語解説&gt;

## 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……………葯を培養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……………花粉を培養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*法等)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

作物群	分類	植物体再分化技術										細胞育種技術								備考：× 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術
		培養系技術	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	ウイルスフリー化技術	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	
作物名																				
普通作物	イネ	○	◎	◎	○	×	○	○	◎	△	○	—	△	×	◎	○	○	◎		
	コムギ	○	◎	◎	○	△	△	△	○ <sup>1)</sup>	—	—	—	×	×	◎	○	×	×		
	オオムギ	○	◎	○	○	△	△	△	△	—	—	—	×	×	◎	△	×	×		
	ダイズ	◎	○	△	×	○	△	×	◎	△	—	—	—	×	×	×	○	×	△	
	ササゲ	○	△	×	×	○	×	×	△	△	—	—	—	×	×	×	×	×	△	
	アズキ	○	△	×	×	×	×	×	×	×	—	—	—	×	×	×	△	×	×	
	バレイショ	◎	◎	○	○	○	◎	◎	△	◎	◎	◎	◎	×	×	◎	○	◎	◎	
	カンショ	◎	○	△	×	◎	○	△	△	○	○	×	◎	×	×	×	×	×	×	
	トウモロコシ	○	◎	○	△	△	○	△	○	○	△	△	×	×	○	○	○	×	○	
	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	△	×	×	×	×	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ナタネ	◎	◎	◎	◎	○	◎	◎	○	△	△	—	×	×	◎	○	○	○	○	
	ラッカセイ	○	△	△	×	△	×	×	×	×	×	×	—	×	×	×	×	×	×	
飼料作物	イタリアンライグラス	○	○	○	×	×	○	×	○	△	○	×	○	×	×	○	×	△ <sup>2)</sup>	×	
	オーチャードグラス	○	×	×	×	×	○	△	○	△	×	×	○	×	×	×	×	×	△	
	チモシー	△	×	×	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	トールフェスク	△	○	○	×	×	○	×	○	○	×	×	×	×	×	○	×	△ <sup>3)</sup>	×	
	ベレニアルライグラス	△	○	○	×	×	△	×	○	○	×	×	×	×	×	○	×	×	×	
	メドウフェスク	△	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	スムーズブロムグラス	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ダリスグラス	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	バヒアグラス	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	パニカム	×	△ <sup>4)</sup>	×	×	×	○	×	○	△	×	×	×	×	×	×	×	△	×	
	ローズグラス	×	×	×	×	×	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ネピアグラス	×	×	×	×	×	○	×	○	△	×	△	×	×	×	×	△ <sup>5)</sup>	×	×	
	パールミレット	×	×	×	△	×	○	×	○	△	×	△	×	×	×	×	△	×	×	
	アクロローバ	○	○	×	×	×	○	×	○	○	△	×	○	×	×	×	△ <sup>6)</sup>	×	×	
シロクローバ	○	○	×	×	○	○	×	○	○	△	×	○	×	×	×	×	×	△		
アルファルファ	○	○	○	×	×	○	×	○	○	△	○	○	×	×	○	△	○	○		
ハーフットレフォイル	×	×	×	×	×	×	×	△	○	△	×	×	×	×	×	△	△	○		
スタイロサントス	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	△		



作物群	分類 作物名	植物体再分化技術										細胞育種技術							備考：× 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術	
		培養系系	茎頂培養系	胚培養系	約培養系	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	ウイルスフリー化技術	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
芝草類	ベントグラス	×	×	×	×	×	△ <sup>7)</sup>	×	○ <sup>8)</sup>	○ <sup>9)</sup>	×	△	×	×	×	×	△ <sup>10)</sup>	×	×	△ 報告あり
	レッドフェスク	△	○	×	×	×	△ <sup>11)</sup>	×	△ <sup>12)</sup>	△ <sup>13)</sup>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
	ノシバ	×	×	×	×	×	×	×	△	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×	
	ケンタッキーブルーグラス	×	×	×	×	×	△	×	△	△	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
野菜	キュウリ	○	○ <sup>14)</sup>	△	×	△	△	△	◎	○	×	○	-	×	×	△	×	△ <sup>15)</sup>	△ <sup>16)</sup>	○ 可能 ◎ 安定技術
	メロン	○	○	△	×	△	×	×	◎	○	△	○	-	×	△	△	×	△	△	
	スイカ	○	△	×	△	△	×	×	○	×	×	○	-	×	△	△	×	×	×	
	カボチャ	○	○	×	×	○	×	△	○	×	×	△	-	×	△	△	×	△	×	
	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	◎	△	△	×	△	×	△	○	△	×	○	-	×	×	×	×	△	×	
	ネギ	○	△	×	×	×	△	×	△	×	×	○	○	×	×	×	△	×	×	
	ニンニク	◎	×	×	×	△	×	×	△	×	○	○	◎	×	×	×	×	△	×	
	アスパラガス	◎	△	○	△	×	△	△	◎	○	△	◎	○	×	×	△	△	×	△	
	エンドウ	○	△	×	×	×	×	×	△	△	△	△	-	×	×	×	×	×	×	
	インゲンマメ	◎	○	×	×	×	×	×	△	×	×	×	-	×	×	×	×	×	×	
	ニンジン	○	×	△	×	×	◎	×	◎	◎	△ <sup>17)</sup>	◎	-	○	×	×	○	○	○	
	セロリー	○	×	△	×	×	◎	×	◎	○	×	◎	-	○	×	×	○	×	×	
	菜	レタス	○	×	×	×	×	○	×	◎	×	◎	-	○	×	×	×	○	○	
		ゴボウ	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	-	×	×	×	×	×	×	
		サトイモ	◎	×	×	×	×	×	×	○	○	◎	◎	×	×	×	×	×	×	
ヤマノイモ		○	×	×	×	×	△	×	△	△	○	△	○	×	×	×	×	×		
ハウレンソウ		○	×	×	×	×	×	×	△	×	×	×	-	×	×	×	×	×		
フキ		○	×	×	×	×	×	×	×	○	×	○	○	×	×	×	×	×		
果樹		ブドウ	◎	○	△	△	○	◎ <sup>E</sup>	◎ <sup>E</sup>	◎ <sup>B</sup>	△	◎	◎	◎	×	×	△	×	×	○
	カキ	◎	○	×	×	×	×	△ <sup>B</sup>	△ <sup>B</sup>	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	
	クリ	○	×	×	×	×	×	△	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	

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 養系系 技術	植物体再分化技術								細胞育種技術								備考：× 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術	
		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	ウイルスフリー化技術	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
作物名																			
果	ビワ	○	×	×	×	×	×	△	△	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×
	オウトウ	◎	○	△	×	×	×	△ <sup>18)</sup>	○	○ <sup>18)</sup>	△	◎	○	×	×	×	×	△ <sup>18)</sup>	×
	西洋ナシ	◎	×	×	×	△	×	△ <sup>18)</sup>	○	○ <sup>18)</sup>	△ <sup>19)</sup>	◎	○	×	×	×	×	△ <sup>20)</sup>	×
	パイナップル	◎	×	—	×	×	×	×	◎ <sup>18)</sup>	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×
	ブルーベリー	◎	△	×	×	×	×	×	○ <sup>18)</sup>	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×
	キウイ	◎	△	×	×	×	○ <sup>18)</sup>	◎ <sup>18)</sup>	◎ <sup>18)</sup>	◎ <sup>18)</sup>	△	◎	×	×	×	×	×	×	○
	ザクロ	◎	×	×	×	×	○ <sup>18)</sup>	◎ <sup>18)</sup>	○	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×
	カンキツ	△	◎	◎ <sup>F)</sup>	○	◎ <sup>F)</sup>	◎ <sup>F)</sup>	◎ <sup>F)</sup>	○	◎ <sup>E)</sup>	△	◎	◎	×	×	○	○	◎	◎
樹	リンゴ	◎	○	△ <sup>E)</sup>	△	○ <sup>E)</sup>	×	○ <sup>E)</sup>	◎ <sup>18)</sup>	◎ <sup>18)</sup>	○	◎	◎	×	×	△	×	×	△
	日本ナシ	◎	×	×	×	×	×	△	△	×	○	◎	◎	×	×	×	×	×	×
	モモ	◎	◎	×	×	×	×	○ <sup>18)</sup>	×	×	△	◎	◎	×	×	×	○	×	×
	スモモ	◎	○	×	×	×	×	○	×	×	△	◎	◎	×	×	×	×	×	×
	アンズ	△	○	×	×	×	×	△	×	×	×	△	×	×	×	×	×	×	×
	ウメ	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
花き	キク	◎	△	×	×	×	△	×	×	○	○	◎	×	×	×	×	×	△ <sup>21)</sup>	×
	ツツジ	◎	×	×	×	△	×	×	×	○	◎	◎	×	×	×	×	×	×	×
	ユリ	◎	◎	×	×	△ <sup>22)</sup>	×	×	×	×	△ <sup>23)</sup>	◎	◎	×	△ <sup>24)</sup>	×	×	×	×
	チューリップ	△	△ <sup>25)</sup>	×	×	△ <sup>26)</sup>	×	×	×	×	×	×	△	×	△ <sup>27)</sup>	×	×	×	×
	カーネーション	◎	△	×	×	△	△	×	×	△	○	◎	×	△	×	△ <sup>28)</sup>	×	×	×
	ラン類	◎	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	◎	×	×	×	×	△ <sup>29)</sup>	×
桑	クワ	◎	×	△ <sup>30)</sup>	×	×	×	×	×	×	◎	◎	×	△ <sup>31)</sup>	×	×	×	△ <sup>32)</sup>	
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

植物群	分類	植物体再分化技術											細胞育種技術							備考: × 未開発 △ 報告あり ○ 可能 ◎ 安定技術			
		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	フロトプラスト培養系	遺伝資源保存技術	大量増殖技術	ウイルスフリー化技術	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
植物名																							
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		○	×	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
樹	ギンドロ	◎	×	◎	×	×	×	×	○ <sup>B</sup>	×	×	◎	×	○	×	×	×	×	×	×	○	×	
ヤマナラシ		×	×	○	×	○	×	×	○ <sup>B</sup>	×	×	◎	×	○	×	×	×	×	×	×	○	×	
ヒロハハコヤナギ		◎	×	◎	×	○	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	○	×	
イタリーポプラ類		◎	×	◎	×	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	×	×	○	○	
トチノキ		×	◎	×	×	×	×	×	○ <sup>E</sup>	×	○ <sup>E</sup>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
シラカンバ		◎	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	×	○	×	×	×	×	×	×	×	
クスギ		×	◎	×	◎	×	×	×	○ <sup>E</sup>	×	◎ <sup>E</sup>	×	×	◎	×	△ <sup>33)</sup>	×	×	×	×	×	×	
コナラ		×	○	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
ミズキ		◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
キハダ		×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
コウゾ		×	○	◎	×	×	×	×	○ <sup>B</sup>	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	△ <sup>34)</sup>	
ミツマタ		×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
キリ		◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	◎	△ <sup>35)</sup>	×	×	×	×	×	×	×	×	
ミズメ		○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
クチナシ		◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
ハクチョウゲ		◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
シナノキ		×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
木	サクラ	△	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
ジンチョウゲ		×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
ヒムロ		×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
フユボダイジュ		×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
ユーカリ		◎	○	×	×	×	×	×	×	×	○	×	○	×	×	×	×	×	×	△ <sup>36)</sup>	×	×	
アキニレ		×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
イスエンジェ		×	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
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



植物群	分 類 植物名	植物体再分化技術										細胞育種技術								備考： ×未開発 △報告あり ○可能 ◎安定技術		
		培養系系 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	ウイルスフリー化技術	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
樹	ニセアカシア	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	ヤマモモ	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	カジノキ	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
木	ドイツトウヒ	×	×	○	○	×	×	×	○ <sup>B</sup>	×	△ <sup>E</sup>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
	ラジアータマツ	○	×	×	◎	×	×	×	×	×	△ <sup>38)</sup>	×	○	◎	×	×	×	×	×	×	×	×
	テーダマツ	×	×	×	◎	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×

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 (1990年調査で新たに△または○になった文献を中心に記載)

- 1) コムギ  
Vasil, V., F. Redway and I.K. Vasil (1990) Regeneration of plants from embryogenic suspension culture protoplasts of wheat (*Triticum aestivum* L.), *Bio/ Technology* 8 : 429-434
- 2), 3) イタリアンライグラス、トールフェスク  
高溝 正・杉信賢一 (1990) ヨードアセタミド処理したトールフェスクプロトプラストとイタリアンライグラスプロトプラストの融合. 日草試36 (別) : 179-180
- 4) パニカム  
小松敏憲ほか (1986) カブラブラグラス×マカリカリグラスF<sub>1</sub>雑種植物の染色体対合と稔性について 育種36 (別1) : 118-119
- 5) ネビアグラス  
Redway, F.A. and I.K. Vasil (1990) Selection of S-(2-aminoethyl)-L cystein tolerance in embryogenic calli and regenerated plants of *Pennisetum purpureum* Schum. *Plant Sci.* 67 : 203-209
- 6) アカクローバ  
Taylor, S.G., D.G. Shilling and K.H. Quesenberry (1989) In vitro selection for 2,4-D tolerance in red clover. *Theor. Appl. Genet.* 78 : 265-270
- 7), 8), 9) ベントグラス  
浅野義人・杉浦清之 (1990) ベントグラスプロトプラストからの植物体再生. 育種40(1) : 264-265
- 10) ベントグラス  
Torres K. et al. (1985) Turfgrass improvement through tissue culture. *Louisiana Agr.* 28 : 6-8
- 11), 12), 13) レッドフェスク  
Zaghmout, O.M.F. and W.A. Torello (1990) Isolation and culture of protoplasts from embryogenic suspension cultures of red fescue (*Festuca rubra* L.). *Plant Cell Reports* 9 : 340-343
- 14) キュウリ  
藤下典之・斉藤清子 (1990) キュウリの胎座切片培養による接合子と初期球状胚からの植物誘導. 植物組織培養 17(1) : 23-30
- 15) キュウリ  
Chee, P.P. (1990) Transformation of *Cucumis sativus* tissue by *Agrobacterium tumefaciens* and the regeneration of transformed plants. *Plant Cell Reports* 9 : 245-248
- 16) メロン  
Fang, G. and R. Grumet (1990) *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation and regeneration of muskmelon plants. *Plant Cell Reports* 9 : 160-164
- 17) ニンジン  
Kaimori, N. and T. Kameya (1990) Plant regeneration from dried carrot callus preserved in liquid nitrogen. *Plant Tissue Culture Letter* 7 : 199-201
- 18), 20) オウトウ, 西洋ナシ  
Ochatt, S.J., E.M. Patat-Ochatt, E.L. Rech, M.R. Davey and L.B. Power (1989) Somatic hybridization of sexually incompatible top-fruit tree rootstocks, wild pear (*Pyrus communis* var. *pyraster* L.) and colt cherry (*Prunus avium* x *pseudoserotus*). *Theor. Appl. Genet.* 78 : 35-41



- 19) 西洋ナシ  
Reed, B.M. (1990) Survival of in vitro-grown apical meristems of *Pyrus* following cryopreservation, *Hort Science* 25 : 111-113
- 21) キク  
中神 敏 (1989) キクのプロトプラスト培養と細胞融合 バイオホルティ 3 : 24-27
- 22) ユリ  
Kanoh, K. et al. (1988) Production of interspecific hybrids between *Lilium longiflorum* and *L. elegance* by ovary slice culture. *Japan. J. Breed.* 38 : 278-282
- 23) ユリ  
Bouman, H. et al. (1990) Symposium on integration of in vitro techniques in ornamental plants breeding の講演要旨 (印刷中)
- 24) ユリ  
Van Tyul, J.M. et al. (1990) Symposium on integration of in vitro techniques in ornamental plants breeding の講演要旨 (印刷中)
- 25) チューリップ  
Eikelboom, W. et al. (1990) Symposium on integration of in vitro techniques in ornamental plants breeding の講演要旨 (印刷中)
- 26) チューリップ  
Eikelboom, W. et al. (1990) Symposium on integration of in vitro techniques in ornamental plants breeding の講演要旨 (印刷中)
- 27) チューリップ  
池田 洋・馬上武彦 (1981) 試験管内受精によるチューリップの自家不和合性の打破. 育種31 (別2) : 62-63
- 28) カーネーション  
Buiatti, M. et al. (1985) Correlation between in vitro resistance to *Fusarium* and in vitro response to fungal elicitors in carnation. *Theor. Appl. Genet.* 70 : 42-47
- 29) ラン類  
安来三郎・中谷 豊 (1990) ラン科における細胞育種に関する研究 (第一報). 園学誌59 (別1) : 546-547
- 30) クワ  
押金健吾 (1989) 桑遺伝資源の保存と利用に関する研究—組織培養による桑遺伝資源の高度利用. 昭和63文部科研 (総合A) 報告 : 17-25
- 31) クワ  
町井博明 (1990) クワの不定芽利用による人工種子作成の試み. 日蚕関東講演 41 : 15
- 32) クワ  
Machii, H. (1989) Leaf disc transformation of mulberry plant (*Morus alba* L.) by *Agrobacterium* Ti plasmid. 日蚕雑 59 : 105-110
- 33) クヌギ  
香西 謙・中田義宏 (1990) クヌギの不定胚の人工種子化に関する研究. 林木の育種 157 : 5-8
- 34) コウゾ  
榎本末男・大島正弘・伊藤博孝・岡 成美・大橋祐子 (1990) バイナリーベクターを用いたコウゾの形質転換体作出. 日蚕関東講演 41 : 17
- 35) キリ  
宗 碩林・永野正造・工藤 亘 (1990) 茎頂培養によるキリてんぐ巢病フリー苗作出の試み. 日林誌 72 : 139-142
- 36) ユーカリ  
Teulieres, C. et al. (1989) Isolation and frost resistance screening of protoplasts from different clones of *Eucalyptus*. *J. Plant Physiol.* 134 : 316-319
- 37) ドイツトウヒ  
Gupta, P.K., G.S. Pullman, M.E. Kreitinger and R. Timmis (1990) High frequency plantlet regeneration via somatic embryogenesis from protoplast of norway spruce (*Picea abies*) embryonal cells. *Abst. IIIrd Int. Congr. Plant Tissue and Cell Cult.* p103, A3-82
- 38) ラジアータマツ  
Stephen, F. and R. Young (1990) Somatic embryogenesis in *Pinus radiata* Don. (Radiata pine). *Abst. IIIrd Int. Congr. Plant Tissue and Cell Cult.* p246, B4-24

#### 編集後記

害虫に寄生するウイルス，例えば核多角体ウイルス，細胞質多角体ウイルス，細胞質顆粒ウイルスなどによって害虫を防除しようとする研究が盛んに行われています。これまでウイルスの増殖には，宿主害虫を人工培養し，これにウイルスを接種する方法がとられてきました。この場合宿主害虫を大量に人工培養

することが，経済的に溢路となっていました。最近，佐藤さん達は，表紙の写真に見られるように，重要害虫であるカブラヤガの幼虫からとった培養細胞でカブラヤガの核多角体病ウイルスを増殖させることに成功しました。この成果はウイルスによる害虫の生物防除に大きく貢献するものと期待されています。

(大畑記)

#### ブレイン テクノニュース (第24号)

平成3年3月15日発行

発行者 佐野宏哉

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. 03-3205-6565 FAX. 03-3205-6566

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. 03-3667-8931 FAX. 03-3667-8933