

## 作物生産におけるバイオテクノロジーの実際(1)

誌名	日本作物學會紀事
ISSN	00111848
著者	高橋, 正昌
巻/号	57巻3号
掲載ページ	p. 569-573
発行年月	1988年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



細胞増殖のコントロール及び細胞分化の制御を通して実現する。現在この分野では、生長速度の加速、分裂中に出現する変異の抑制、培養環境のコントロール、培養苗の活着率の向上につき技術改良が望まれている。細胞分化を支配しているホルモン、栄養条件等の作用機構を解明する研究は、培養系の安定化と効率化につながり、培地成分を置換しやすくする培養基の開発は生長の加速、コストダウンを実現する技術につながる。組織培養技術は、それ自体、育種的操作を旨とする技術ではないので、組織（細胞）栽培技術という観点から研究を深化する必要がある。

2) 細胞（又は組織）を用いた有用物質生産

三井石油化学がムラサキの根の細胞培養によりシコニンを生産し、資生堂が、それを用いて“バイオ口紅”を商品化した事例がよく知られている。分離細胞そのものを用いて目的成分を生産する場合には、目的成分の産出率を高めるような培養環境ストレスを解明する研究、代謝制御物質の開発が有効な結果を生む。また、医学分野でモノクローナル抗体作成に使用されているハイブリドーマの開発もこの分野では要望されており、分裂能の高い細胞と、目的成分産生能の高い細胞との雑種細胞（ハイブリドーマ）が作出されれば、生産能は飛躍的に向上し、更に、どちらかの細胞が光合成能力を有している場合には、培地の大半なコストダウンが実現しよう。有用物質産生能を高めるのに遺伝子操作技術を応用する場合には、目的物質（多くはアルカロイド又は配糖体）の生合成経路が解明されていることが前提となる。

3) 品種改良及び新作物の作出

組織（又は細胞）培養中に生ずる変異を利用して行なう品種改良は、突然変異育種の範ちゅうに属す

るが、遺伝子操作技術による品種改良及び新作物の作出は、改良の目標となる特性（形質）が分子レベルで解明されていることが前提となるので、作物学の果たす役割りは大きい。

バイオテクノロジーの発展世代として、微生物の遺伝子操作技術を第1世代、植物の単一遺伝子操作技術を第2世代、複数の遺伝子操作技術を第3世代とする分類が行なわれているが、現在は、その分類法に従えば、第2世代に至っており、1種類の蛋白質遺伝子の導入で画期的改良をもたらす品種改良が主流となっている。上述した米国の先進事例及びゲートハウス女史の研究は、まさにその種の要望に応えるものであり、少くとも今後10年程度は、「単一遺伝子支配形質の解明と支配因子（蛋白）の同定」に研究の中心が置かれるであろう。

第1図に示した“耐冷性イネの作出”は典型的な第3世代バイオの事例である。分子遺伝学的には複数の遺伝子を同調的に発現させている機構の解明がなされると共に、遺伝子間相互作用、遺伝子の発現調節機構が全て解明され、技術化されていることが前提となり、作物生理学的には、耐冷性の生化学的機構が解明され、かつ耐冷性支配因子が十分条件として解明されていることが前提となる。

2. 作物生産におけるバイオテクノロジーの実際

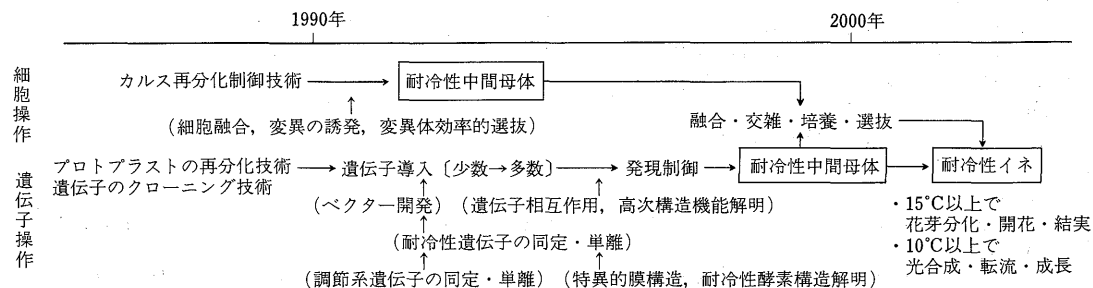
1) イネに関するバイオテクノロジー

高橋正昌

(三井東圧化学総合研究所)

(1) 育種過程とバイオテクノロジー

バイオテクノロジーは、新しく生み出される品種に、目標とする形質を合理的に付与できる、技術群として期待されつつある。目標形質を実現する過



第1図 成果を生むための技術展開例「耐冷性イネの作出」

( )内は支援技術又は研究成果

程, すなわち育種の過程は, 素材の探索→変異の作出→選抜→固定→増殖→保存, という工程から構成され, バイオテクノロジーを構成する技術群は, 「素材の探索」, 「変異の作出」, 「選抜」以降, の三つの工程に関するものに大別される。

バイオテクノロジーを構成する技術群の中心をなすものは, 「種」のワクを越えて, 目的とする遺伝子を単離し, それを新しい品種に導入するという, 遺伝子組換え技術である。従って, 「素材の探求」という工程に関する技術としては, 種のワクにとらわれずに, 目的とする遺伝子を DNA ベースで単離・増殖する技術または合成する技術が, 活用あるいは開発されつつある。作物の諸形質に関与する遺伝子には, 数~数十 kbp 程度の DNA より成るものから数百~千 kbp 程度の DNA より成るのまであり, 特に重要形質は後者のようなポリジーンに支配されていると推定されている。

新しく生み出される品種に, 目標とする形質を導入する工程が, 「変異の作出」工程であるが, 目的とする遺伝子の単離は始まったばかりで, また遺伝子導入技術の開発も植物では初期段階のため, 第1表にまとめた種々の技術が, この工程で活用または開発されているのが現状である。表中の技術には, 未だアイデア段階のもの (\*印) から実用段階のもの (○印) まで含まれている。

イネにおいて突然変異誘導技術として, また第2表に示した「固定」工程の技術としても最近大いに活用されつつあるのが, 薬培養技術であり, 薬培養をイネの育種に活用している自治体の数が, 日経マグローヒル社の「都道府県のバイオテクノロジー開発

動向調査 ('87年度)」によると, 25の多くにのぼっている。薬培養技術を用いて作出された品種・系統としては, 中国の「中花2号」, 「同8~9号」, 「黔花1号」, 「南花5号」, 「同11号」, 「仙花2号」等が, 我が国の「水稻中間母体農1号」(北陸農試), 「上育394号」および「北海40号」(上川農試)等がある。

第1表の“核と細胞質の変異”以下の技術の基盤技術として重要な技術に, プロトプラスト培養技術がある。イネにおけるプロトプラスト培養技術は, ここ3年 ('85~'87)の間に, ほぼ実用的レベルに達し, 種々の品種においてプロトプラストからの植物体再分化が可能となった。しかし, プロトプラスト培養技術は, 突然変異誘導技術として活用することも可能であり, 上記の場面における基盤技術たるためには, 突然変異の発生を極力防ぐ技術の確立が重要となる。

プロトプラスト融合技術の開発は, ようやく緒につき, 栽培イネと野性イネとの間, イネとヒネとの間の融合体から雑種植物体を分化させることに成功し ('86~'87), 一方栽培イネ間の非対称融合の研究も進みつつある。ここ2~3年の間に, プロトプラスト培養技術と同様に実用的レベルに達するのではないかと推測される。

イネにおける外来遺伝子導入技術の研究は, 培養細胞レベルでの組換えが可能となった段階で, 植物体再分化への研究が盛んに進められている。一方, 外来遺伝子導入のためのベクターとしては, Ti プラスミド系に代わり, カリフラワーモザイクウイルスの 35S プロモーターや Ti プラスミドのノパリ

第1表 「変異の作出」工程に関する技術。

変異の種類	技術の種類
交雑 (難交雑の実現)	胚培養 <sup>○</sup>
突然変異	カルス培養 <sup>○</sup> , プロトプラスト培養 <sup>○</sup> 薬培養 <sup>○</sup> , 花粉培養
核と細胞質の変異	プロトプラスト融合      細胞融合  非対称融合
染色体置換	核置換
核遺伝子の目標変異	インジェクション 遺伝子組換え用ベクター, プロトプラスト培養 <sup>○</sup> , DNA 細胞内挿入技術 遺伝子組換え用ベクター* DNA 細胞内挿入技術*
オルガネラ遺伝子の目標変異	

<sup>○</sup>印: 実用段階のもの, \*印: アイディア段階のもの (第2表, 第5表も同様)

第2表 「選抜」工程以降の工程に関する技術。

工程の種類	技術の種類
選 抜	標識遺伝子による細胞選抜 セルソーターによる細胞選抜 選抜圧下での細胞選抜 <sup>o</sup>
固 定	薬培養 <sup>o</sup> 花粉培養 胚培養*
増 殖	不定胚形成培養 腋芽形成培養
保 存	成長点培養 <sup>o</sup> 腋芽形成培養

ン合成酵素遺伝子 (NOS) のプロモーターの下流に、標識遺伝子としてカナマイシン耐性遺伝子 (NPT II) やクロラムフェニコール耐性遺伝子 (CAT) を連結した pUC 系ベクターが主流となっている。ベクターの導入方法としては、ポリエチレングリコール法やエレクトロポレーション法が用いられ、外来遺伝子を比較的容易に核に導入することが可能となりつつある。一方、このような組織培養という手段を利用しない、外来遺伝子導入技術の開発がライ麦・トウモロコシで行われ、形質転換体を得ることに成功している。これらの場合、ベクターとしては上記の pUC 系ベクターが利用されており、花粉母細胞へベクターが透過・移動し易い時期を狙って植物体にベクターを注入する方法を採用している。これらの方法の場合、外来遺伝子がどのようなメカニズムで宿主に組み込まれるかは不明である。組織培養という手段を利用する方法に比較して操作が容易であり、しかも突然変異の誘発も少ないと思われる点から、今後イネでもこのような方法の開発とメカニズムの解明を積極的に行なうことが必要と考える。

オルガネラ遺伝子の目標変異のための技術は、ほとんどこれからの開発に依存しているが、非常に興味ある技術としては、pUC 系ベクターのプロモーターと構成遺伝子との間に、目的とするオルガネラに関する核由来のトランジッド・ペプチドを組み込み、構造遺伝子由来の蛋白質を該当するオルガネラに集積させ、その場で機能させようとする技術が挙げられる。この場合、核遺伝子の組換えにより、オルガネラの機能が改善されるという点で非常に有用であり、極く最近、ニューヨーク大学の Chua 教授がタバコにおいて、このような作業仮設が実現可能であることを証明している。

「選抜」工程以降の技術群としては、第2表のようなものが挙げられる。

## (2) 育種目標とバイオテクノロジー

バイオテクノロジーは、新しく生み出される品種に目標とする形質を合理的に付与する技術群として期待されつつある。ところで近年のように国内外の種子競争が激化する状況下では、工業製品と同様にどこにセールスポイントを置くか、即ちどんな形質を目標とするかの詰めが極めて重要となる。イネの場合、どのような魅力的な育種目標が想定され、それらの達成にどのような技術が有用なのだろうか。

近年、わが国における食生活は、多様化および個人化し、それらはグルメ化、インスタント化、少量化などのような態様を示している。“米”の場合も同様な動向にあり、さらには白飯主流の和風傾向も現れつつある。一方、加工食品の分野では、安い原料、加工し易い原料、格差づけできる原料を要望する声が強くなっているが、“米”に関する加工食品の生産が増加しつつある状況では、このような要望に応えることが、非常に重要となってきている。このような状況に対応し、“米”の消費量を総合的に拡大するためには、“米”に要求される物理化学特性を用途別に明らかにし、それらを満足させる品種を作出することが必要である。1986年から農水省農業研究センターが中心となり、「稲と米」という研究会が開催されるようになったのは、このような動向を反映したものである。直接消費対象となる、目的生産物の“米”についてその用途を左右する要因 (目標形質) と、その改良に有用と思われるバイオテクノロジーとの関係を整理した一つの例が、第3表である。第3表に示した、バイオテクノロジーを構成する技術群は、あくまでも現時点で活用可能と判断されるもので、現時点において活用が困難なものは除いた。第4表の場合も同様の立場でまとめたものである。多くの食品において、食べたい気持ちを起こさせる要因 (食感要因) として重要なものは、“テクスチャー”、“口から入る香り”、“外觀”および“色”とされている。中でも重要なものは、“テクスチャー”であり、“米”の粒食におけるテクスチャーを左右する因子として重要なものは、澱粉の構造 (アミロース含有、アミロペクチンの鎖長分布等)、胚乳周辺部および胚乳全般の澱粉粒の発達程度と胚乳細胞内の澱粉粒の発達充実度であるが、その他に澱粉粒のサイズおよびアミロプラスト中の澱粉小粒の数についても、着目する必要があるようで

第3表 “米”の諸形質とバイオテクノロジー。

用途	用途を左右する要因 (形質)	対象形質と有用と思われるバイオテクノロジー
主食・軽食的利用	白飯用 寿司, おにぎり用 カレー, ピラフ, チャーハン用 スープ用	薬 (花粉) 培養  可消化蛋白含量の改良→ 外来遺伝子導入
	雑炊用 粥 用 インスタントライス用 老人食用	
	麺類用 餅 用	
その他	酒米用	薬 (花粉) 培養
	米菓子用	例) 半糯性 薬 (花粉) 培養
	澱粉, 油脂用	・アミロース含量 ・油脂含量 薬 (花粉) 培養
	飼料用	・TDN, DCP 薬 (花粉) 培養

第4表 “稲”の諸形質とバイオテクノロジー。

形質	有用と思われるバイオテクノロジー
早晩性 穂相 耐倒伏性 多分げつ性 多穎花性 耐冷性 耐旱性	薬 (花粉) 培養
耐病性 耐虫性 除草剤抵抗性	薬 (花粉) 培養 外来遺伝子導入
葉緑体の改善	細胞融合

ある。これらの要因に、穀粒のサイズ・形状 (外觀), 香り, および色等の要因を組み合わせた形質を選ぶことによって、主食・軽食的利用における個々の用途の大部分に関する目標形質が設定される。ところで高齢化社会に向かうに従って、食品の消化性が重要になってきている。“米”のタンパク質は、アミノ酸組成の点で非常に優れているが、難消化性のものが約30%存在しており、それは胚乳中に主としてプロテインボディI (PB-I, プロラミンを主とする) として存在している。一方胚乳中には、主としてグルテリンからなる、易消化性のPB-IIが存在するが、もしもPB-IをPB-IIに改変できれば“米”の消化性は非常に優れたものになる。そのため研究がDNAレベルで進められており、グルテリンに関しては、すでにc-DNAが単離され、活用されつつある。

第4表に、主として生産過程を対象とした、作物としての“稲”の改良すべき形質と、その改良に有用と思われるバイオテクノロジーとの関係の一例を整理した。組織培養による突然変異法を用いる新品種の作出の面では、除草剤抵抗性、耐環境ストレス性、耐冷性等の研究が行なわれており、除草剤ベンスルフロンメチル抵抗性「コシヒカリ」個体、環境ストレスと密接な関係のあるプロリンを多量に含む、ハイドロプロリン抵抗性「日本晴」個体等が得られており、またMNNGおよびNMUで処理したイネのカルスから耐冷性細胞が効率良く誘導されることも報告されている。

DNAレベルの研究としては、除草剤に対する抵抗性に関するものが進んでいる。除草剤抵抗性の実用性に関しては疑問も多く、最近では害虫抵抗性品種の育成が主流を成している。とくにBT毒素遺伝子の導入競争が激化しており、Rohm & Haas社およびMonsant社等は、BT毒素遺伝子を導入したタバコ・トマトについて野外試験を始めている。“稲”の場合、BT毒素遺伝子の導入が有用と思われる鱗翅目害虫としてはメイチュウやイネツトムシがあり、望ましいBT毒素遺伝子の探索・導入は、これらの“稲”に関する耐虫性育種の一つの方向と思われる。

(3) ハイブリッドライスとバイオテクノロジー  
イネにおいて、バイオテクノロジーが価値を発揮しそうな場面としては、最近マスコミ等を賑わしているハイブリッドライスがある。技術情報誌トリガ

第5表 ハイブリッドライズとバイオテクノロジー。

育成工程	有用と思われるバイオテクノロジー
・トッブクロスの検定	特殊蛋白質遺伝子型検定*
・細胞質雄性不稔系の作出	非対称細胞融合, 核置換*
・稔性回復系の作出	薬(花粉)培養, 外来遺伝子の導入*
・細胞質雄性不稔系の純化	薬(花粉)培養
・不稔系緩和遺伝子の取り込み	薬(花粉)培養, 外来遺伝子の導入*
・F <sub>1</sub> 増殖	薬(花粉)培養, 外来遺伝子の導入*
・三系採種法	
・組織培養苗	不定胚形成培養, 腋芽形成培養
・アポミクシス活用	非対称融合法*& 薬(花粉)培養
・F <sub>1</sub> の純度検定	特殊蛋白質遺伝子型検定*

—6 (5) (1987) では、“種子ビジネス最前線”という特集記事の中でイネを採り上げ、イネの品種改良に参入している主要4社の取り組み方を紹介しているが、各社ともハイブリッドライズに強い関心を持ち、しかも魅力ある品種開発にはバイオテクノロジーの基礎的研究が極めて重要なことを述べている。

第5表は、ハイブリッドライズの育成工程毎に、期待されるバイオテクノロジーを整理したもので、この中にはこれからの研究に負う部分の大きい技術(\*印)も含めてある。ハイブリッドライズでは、優れた雑種強勢を示す組合せを見出すことが最も重要であり、優れた組合せを発見するための技術として、雑種強勢レベルを生化学的に検定する技術がアメリカ、中国、日本等で開発中である。

細胞質雄性不稔系統の作出では、不稔関連遺伝子が母性遺伝すること、また不稔関連遺伝子用のベクターの研究がほとんど行われていない、という点から、現時点ではタバコの細胞質雄性不稔系統「MS つくば1号」の育成で活用された非対称融合法が最も実用的技術と判断される。

一方、稔性回復系統の作出法としては、稔性回復遺伝子を有する品種を片親とする F<sub>1</sub> に関し薬培養を行い、再分化個体群の中から望ましいものを得る方法が最も実用的と思われる。東北大の鳥山・日向はこの方法によって成果を上げている。将来的には、同遺伝子の単離が望まれる。

ハイブリッドライズの収量をより大きなものにするためには、亜種品種間 F<sub>1</sub> のレベルのものにする必要があるが、その場合雑種不稔が生じ易く、不稔緩和遺伝子 (例えば S<sup>25</sup> 等) の取り込みが必要に

なる。その導入法としては、不稔緩和遺伝子をもつ親を片親とする F<sub>1</sub> の薬 (花粉) 培養が、将来的には不稔緩和遺伝子の単離が合理的と思われる。

現在、ハイブリッドライズの採種は三系採種体系と呼ばれる体系で行われているが、アポミクシス (特にアポメイオーシス) を活用した一系採種体系の可能な品種の育成が試みられ、また一方、ハイブリッドライズの組織培養的育苗技術の開発が、生研機構の出資のもとに行なわれている。

以上述べたように、イネに関するバイオテクノロジーは、未だ開発途上にある。しかし、技術の性格上、完成を待ってその利用を開始するのは得策ではなく、むしろ技術の開発と利用とを裏表一体の関係で進めるのが実際的と判断される。

## 2) タバコのバイオテクノロジー

中村 明夫

(日本たばこ岡山試験場)

タバコは植物ウイルス学、植物生理学、細胞遺伝学などの研究素材としてしばしば用いられてきたが、近年めざましい発展をとげた植物組織培養の基礎研究や、植物のバイオテクノロジー (以下植物バイテクと略記する) に関する最新の研究にはとくに多用されており、これらの分野での研究素材として中心的な役割をはたしている。

しかし、タバコを一つの作物としてみると、わが国の場合生産・利用両面で長いあいだ特殊な扱いを受けてきたこともあって、一般には意外になじみがうすいように思われる。そこで内容は主に育種のことになるが、葉タバコ生産の立場から、主な植物バイテクの構成技術について実際面を概観し、話題提供にしたいと思う。

### (1) 遺伝子組換え技術

有用形質に関する遺伝子を目的とする植物に組換え導入する技術で、植物バイテクの本命として最も期待されている分野である。

遺伝子組換え技術には遺伝子 DNA のクローニング、遺伝子の導入方法および組換え細胞からの植物再生の三つの要件が満足される必要があり、それぞれについて現在世界中で活発な研究競争が展開されている。なかでも DNA 塩基配列の解読や遺伝子 DNA の転換法の開発は文字通り日進月歩である。

しかし農業上の実用形質は多数の遺伝子によって支配され、遺伝子の相互作用も複雑である場合が多い。また組換え細胞からの植物体再生についても、