

野菜におけるバイオテクノロジーの展望と品種改良

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者	平井, 正志
巻/号	13巻10号
掲載ページ	p. 35-40
発行年月	1990年10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



野菜におけるバイオテクノロジーの 展望と品種改良

平井 正志

細胞融合については種々の試みがなされてきたが、野菜育種に利用できる成果はごく限られている。しかし、蒴培養や胚培養は育種に利用され、2, 3の新品種が発表されている。

アグロバクテリウムを用いた形質転換系は種々の双子葉の野菜で確立されつつある。一方単子葉の野菜の多くはプロトプラスト培養系が確立されておらず、エレクトロポレーションによる形質転換も難しいが、最近開発された爆撃法を利用できる可能性がある。

一方野菜の品種改良に利用できる遺伝子でクローニングされているものはウイルス遺伝子やトマトのポリガラクチュロナーゼ等ごく限られている。交配実験から判明している農業上価値ある遺伝子をクローニングすることは一部を除き、現在のところかなり困難であろう。プロモーターの改良、アンチセンス RNA の利用など遺伝子改変方法の研究は進んでいる。

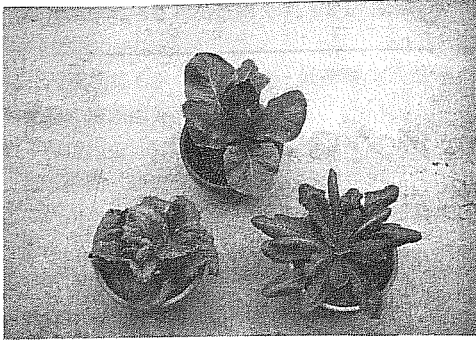
RFLP を利用した選抜法は育種の効率化、育種期間の短縮に利用できるであろう。

近年バイオテクノロジーを用いた品種改良に多くの期待が寄せられてきた。しかし現実にはこれを用いた新品種はまだごく少ないし、開発途上のものも多くはない。ここではバイオテクノロジーの手法別に技術開発の現状と将来の展望を述べることにする。なおバイオテクノロジーを用いた大量増殖とそれに関連する品種については“急速大量増殖”(バイテクによる野菜の採種, そ菜種子生産研究会編, 誠文堂新光社, pp. 109-136.) を参照されたい。

1. 細胞レベルでのバイオテクノロジー

細胞融合に関しては日本でもかなり多くの研

究者が取り組んできた。しかし育種にむすびついた成果は決して多くはない。長野県で行われているレタスとその近縁種との融合によるレタスの育種では稔性のある後代が得られており、今後の育種への期待が持たれている(写真1)。ナス属植物の細胞融合はナス科野菜の台木育種として今後期待できる分野であろう。これ以外の野菜ではアブラナ科野菜についても種々の融合植物が得られているが、細胞融合でなければ得られないという成果はまだ出ていない。細胞融合をこの他の植物に広げるためには今後もかなりな努力が必要であろう。サトイモやヤマノイモ等栄養繁殖性の野菜に細胞融合を応用すれば融合植物が不稔性でもさしつかえないので育種の課題として興味があるが、ショウガ以外ではプロトプラスト培養系が確立されていないの



注) 左: 栽培品種 (シナノグリーン)
右: *L. virosa*
中央: 体細胞雑種

写真1 レタスとその近縁種との細胞融合
(長野野菜花き試 松本氏提供)

で当面は無理であろう。また細胞質の遺伝子だけを取り込ませるサイブリッドは細胞融合によって簡単にできるので、これによって細胞質雄性不稔の利用の範囲が広まるであろう。ただ現在のところ育種に利用できる細胞質雄性不稔は限られている。

細胞融合はその適応範囲も当初考えられていたように広くなく、胚培養等で F_1 が得られる組合せについては稔性のある F_1 が得られているが、それ以上の遠縁の組合せでは不稔になる場合がかなりあり、育種に利用できない場合が多い。これを解消する方法として非対称融合法が提唱されている。すなわち一方の親に X線照射等の処理を加えて、その遺伝子の一部だけを持ち込もうとする方法である。この手法はいままでかなり多くの研究者によって試みられている。しかし、この方法はどれぐらい遠縁の植物間に利用できるのだろうか？ またこの場合の細胞融合選抜法はどうすべきか、目的とする遺伝子そのものが選抜マーカーになる場合は別として、どの場合にも有効な選抜方法は不可能であろう。多くの研究者が非対称融合を実用技術として取り組んでいるが、まだ基礎研究の段階と見るべきで、解決しなければならない問題点は多い。

一方バイオテクノロジーのブームは培養技術の向上や普及を促した。細胞融合等の先端技術

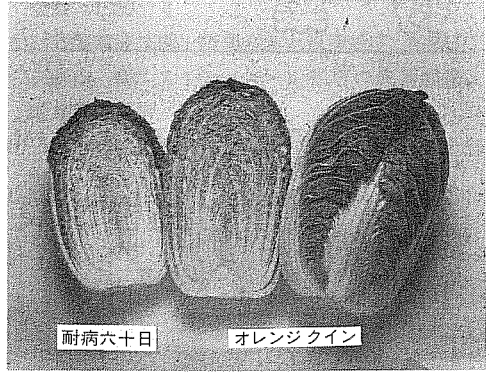


写真2 薬培養を用いて作出したハクサイ新品種オレンジクイン
(タキイ種苗 湊氏提供)

だけではなく薬培養や胚珠培養等従来から行われてきた培養技術についてもより効率的にかつより簡単にできるものになった。この結果多くの研究機関、種苗会社でこれらの培養技術が育種のプログラムに組み入れて利用されるようになってきている。キリンビールとトキタ種苗が胚培養を利用して作出した千宝菜、ハクサイの薬培養を育種に利用したタキイ種苗のオレンジクイン(写真2)はそのよい例であろう。いずれも手法だけではなくセールスポイントもユニークであり、好評を得ている。今後もこの種の品種は増えるであろう。薬培養や花粉培養が育種に利用できるほど効率よく行える野菜はハクサイやナス等であり、まだごく少ない。また培養の難易に品種間の差が大きく改良の余地も大きい。キャベツ、ブロッコリやカリフラワーまたナス科のトマトやピーマンなどについても培養効率を上げることが望まれている。

2. 形質転換と分子レベルでのバイオテクノロジー

(1) 形質転換法の開発

形質転換法の重要な部分は培養技術である。

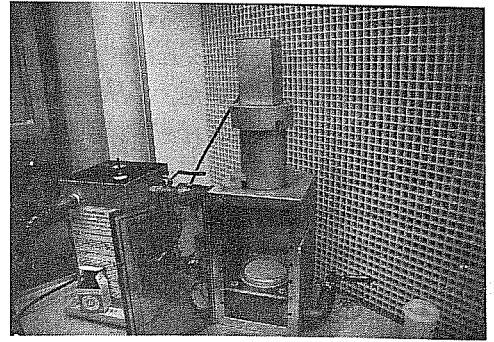
これまで植物で最も多く使われている形質転換法はアグロバクテリウムを用いる方法である。野生株のアグロバクテリウムを用いる場合得られた形質転換体はホルモン合成酵素遺伝子の働

きで奇形となる。したがって実用的形質転換ではこれらの遺伝子をとりぞいたアグロバクテリウムを用いる必要がある。このように改変したアグロバクテリウムを用いて野菜ではトマト、ナス及びレタスで多くの成功例が発表されている。またメロンやキュウリなどウリ科野菜でも研究が進められている。しかし、重要な野菜であるアブラナ科野菜についてはアメリカ合衆国やカナダ等で盛んに形質転換が行われているものの日本での成功例はまだほとんど無い。これは日本で用いられているアグロバクテリウムの系統に対しアブラナ科植物が過敏反応を起こすためと思われる。さらに多くの園芸植物の形質転換のためには種々のアグロバクテリウム野生株の改良が必要であろう。しかしこの改良にはかなりの労力と技術が必要であるが、この方面の研究は決して十分とは言えない。

アグロバクテリウムは双子葉植物の形質転換には利用できるが、単子葉植物のそれにはきわめて難しい。現在イネ、トウモロコシ等の単子葉植物の形質転換は主として電気穿孔法（エレクトロポレーション）によって行われている。これはプロトプラストをDNA溶液に懸濁し、電気パルスをかけ、DNAを物理的に細胞内に入れるものである。野菜への適用はニンジンやトマトの例があるがまだ少ない。

ごく最近開発された方法として爆撃法がある。これはタングステンの小粒にDNAをつけて火薬の力で植物組織に打ち込む方法である。この小粒は空気との摩擦で減速してしまうので、減圧できる容器内で撃ち込むようになっている（写真3）。小粒があまり多く入った細胞は死ぬが、小粒が少し入り、かつ生きている細胞は形質転換している可能性がある。この細胞から不定芽や不定胚が誘導されれば形質転換体を得られる。この方法についてはまだ報告もきわめて少ないが、プロトプラスト培養のできないサトイモ、ネギ等単子葉植物についてはこの方法を検討する必要がある。

このほかに受粉直後の胚に花粉管を通してD



注) 上の筒の部分が鉄砲で、下の箱の中に植物組織を入れ、真空にしてから発砲する。

写真3 爆撃法に用いる装置

NAを導入するなどの方法も考案されているがまだ信頼にたる結果が得られていない。

(2) 野菜育種に利用できる遺伝子

形質転換法はこのように着実に進歩しているが、最も重要な導入すべき遺伝子の方はどうなっているのだろうか。野菜の育種に利用できるだろうと考えられ、かつ現在単離されている遺伝子はまだごくわずかしかない。このうち利用価値の高いと考えられているものをいくつか紹介しよう。

1) ウイルスの遺伝子

ウイルスの外被タンパク質の遺伝子を植物に入れると、そのウイルスに抵抗性となることがTMVやCMVを用いた研究で明らかにされている。しかしその抵抗性はTMVの場合トマトで用いられている T_m 、 T_{m-2} や T_{m-2a} の抵抗性と比べていまのところかなり弱い様である。だがトマトにおけるCMV等のようにいままでも利用しうる抵抗性遺伝子の無いウイルスについては有効かも知れない。一方外被タンパク質遺伝子につなぐプロモーターの改良やアンチセンス遺伝子（後述）の利用により実用的な抵抗性が得られる可能性もあろう。

2) トマト果実のポリガラクトクトロナーゼ

果実が成熟ともなると柔らかくなるのは種々の多糖類分解酵素が成熟と共に合成され、これによりペクチン等の多糖類が分解するためと考えられている。ポリガラクトクトロナーゼはこ

の中で最も重要な酵素と考えられてきた。したがってこの酵素の合成を抑えれば果実の軟化が抑えられると推定されていた。この研究は2つのグループによって進められた。あるグループはこの酵素遺伝子のアンチセンス（後述）を用いて成熟に伴う酵素合成を抑えた。しかし果実の軟化そのものは抑えられなかった。また他のグループは成熟しない。したがって軟化しない突然変異株のトマトでこの酵素遺伝子を働かせ、果実を軟化させようとした。しかし軟化させることはできなかった。この2つの結果からこのポリガラクトナーゼは果実軟化に関与しないのではないかと考えられるが、その後の研究で酵素活性をさらに低く抑えれば軟化も抑えられたといわれている。いずれにしても果実軟化は近い将来DNA組み換えによって制御する課題の一つであろう。

3) 除草剤抵抗性

除草剤には様々な作用機作のものがあり、したがって抵抗性の機構も様々である。抵抗性雑草に対する利用上の問題からもその作用機作の研究が進んでいる。この基礎研究をもとに種々の抵抗性遺伝子が見つけれ、クローニングされている。除草剤抵抗性の新品種は今すぐ出てきても不思議では無い。特に林木や観賞用植物の場合には可能性があろう。しかし食用作物である野菜に除草剤耐性を付け、除草剤を多用するというのは問題が多いであろう。

(3) 遺伝子の制御方法

1) プロモーターの改変

遺伝子は一定の制御のもとに発現している。すなわち花の赤い色素を合成する遺伝子は花卉でのみ発現するが、呼吸酵素の遺伝子はほとんど全ての組織で常に発現している。このような発現の違いは遺伝子の前にあるプロモーターと呼ばれるDNA配列によって制御されている。また発現量の違いもプロモーターに由来すると考えられている。このプロモーターを本来のものから別のものにとりかえることによって発現様式、あるいは発現量を変えることができる。

従ってプロモーター次第で今まで役に立たなかった遺伝子が利用できるようになる可能性もある。いままで単離されているプロモーターはまだあまり多くないが、現在多くの研究者が新しいプロモーターを捜しており、今後急速に増えるものと思われ、興味ある分野である。

2) 遺伝子そのものを変える

遺伝子そのものを変化させること、つまりある部分を切り取ったり、いくつかの塩基を交換することは比較的容易にできるようになった。これによって合成されるタンパク質の性質を変えることができる。リジン含量の低いトウモロコシの貯蔵タンパク質にリジンを多く含んだ部分を付け加え、トウモロコシタンパク質の栄養的価値を高めようとする研究もされている。またよく似た手法で酵素の働きを調節し、これによって植物の代謝を変えることも可能であろうが、いまのところ、このようなタンパク質工学ともいえる手法での成功例は無い。微生物を使った基礎研究がある程度進歩しなければ植物への応用も難しいであろう。

3) アンチセンスRNAの利用

最近の遺伝子工学で注目されているのがこの手法である。細胞内で遺伝子から mRNA が合成される。この時それに相補的な RNA が細胞内に存在すると mRNA はそれと結合して働かなくなり、結果として遺伝子の働きは抑えられる。この手法は先に述べたトマトのポリガラクトナーゼでも使われたし、最近ではペチマニアの花弁の色素合成酵素のアンチセンス RNA をもちいて、花色をうすくした研究が発表されている。ある品種の持っている不都合な遺伝子の働きを抑える優れた方法と言えよう。もちろんこの場合も抑えるべき遺伝子そのものがクローニングされている必要があることは言うまでもない。

(4) 育種に有用な遺伝子を得る手法

1) 遺伝子の産物であるタンパク質を単離して、それを手がかりにする方法
精製された酵素を用いて抗体を得、これを用

いてライブラリーをスクリーニングし、遺伝子をクローニングする方法である。この手法には変法がある。目的の遺伝子の産物であるタンパク質が得られればそのアミノ酸配列を決め、それから推定されるDNAの塩基配列を合成し、これをプローブ（検針）に用いてスクリーニングする方法である。しかしこれらの方法で農業上有用な遺伝子を単離するには困難な点がまだ多くある。いままで交配実験から明らかにされた遺伝子でその産物がどのような酵素あるいはタンパク質かが知られているものはほとんど無い。病害抵抗性のように複雑な機構が推定されるものではかなり長期にわたる研究を必要とするのであろう。

2) 生理的あるいは遺伝的差異を利用したクローニング

目的とする遺伝子がある特定の組織または時期に発現するものであればこれを利用したクローニングができる。発現している組織およびしていない組織から mRNA を分離し、その中から発現している組織だけに存在するものを捜し出す方法である。この手法のみである遺伝子をクローニングすることは難しいが、他の方法と組み合わせると有力な手法となる。ある遺伝子に関する同質遺伝子系統があればこれも利用できる。

3) トランスポゾン等による方法

トランスポゾンは染色体上を飛び移り、移った先の遺伝子を壊す遺伝子であり、トウモロコシやキンギョソウで知られている。トランスポゾンを持った植物ではこれによる遺伝変異が高い確率で種々の表現型として観察される。この個体からトランスポゾンの入った部分を捜せばその表現型を支配する遺伝子がクローニングできる。トランスポゾンの代わりにアグロバクテリウムによる形質転換を利用する方法も提唱されている。いずれの方法でもどんな変異が生じるかは推定できないので、ある特定の遺伝子のクローニングに応用することはよほど効率のよいスクリーニング法が無い限り難しい。

4) RFLP (制限酵素断片多型) を利用したクローニング

生物のDNAの塩基配列はたとえ同一な部分であっても個体あるいは品種によりわずかながら違いがある。したがって適当な制限酵素でこの部分を切断すると断片の長さに違いがあらわれてくる。この違いはこの部分のDNAをプローブに用いることで検出できる。このDNA配列の染色体上の位置は2つの断片の長さの異なる2つの品種を交配し、すでに位置が明らかになっている遺伝子との連鎖関係をF₂世代で検定することにより求められる。このプローブはいくらでもふやすことができるので染色体地図は限りなく詳しくすることができる。トマトではすでに600のDNA断片の位置が明らかになっているという。目的とする遺伝子になるべく近いプローブから始め、これに隣接するDNA断片を次々とひろっていく手法で目的の遺伝子に到達することが理論的にはできるはずである。しかしこれもたいへんな労力を要求される方法である。だがこのようにして作られた染色体地図は多くの利点があり、育種の選抜技術の有力な助けになるであろう。詳しくは本吉氏の解説（フーズバイオテクノロジー事典、産業調査会事典出版センター p. 644-649）を参照されたい。DNA組み換えを直接利用した品種改良よりも、RFLPに基づく染色体地図を利用し、育種年限を短縮する技術のほうが先行するのではなかろうか。

3. ま と め

DNA組み換えは種々の利点と同時に他の実験にはない危険性も持っているので、政府により実験指針が出され、これに従うよう指導されている。形質転換植物の野外での栽培は日本ではまだ予備実験の段階であり、たとえ今新品种が作られたとしても実際に農家で栽培されるようになるのはまだかなり先のことであろう。

以上見てきたようにいまのところ育種に利用

できる遺伝子のごくわずかしがクローニングされてい
ない。また今後すぐに爆発的に増えることも考えにくい。このように書くとバイオテクノロジーで画期的な品種をと絶大な期待を寄せている人々には不満かも知れない。しかし、当面はこの方面の基礎研究の進展を待つ必要があ
らう。最近のバイオテクノロジーの進歩は基礎研究が直接育種等の応用研究に役立つことを可能にしたと考えるべきであらう。バイオテクノロジーの進歩で野菜に関する基礎研究そのものが進んだわけでは無いのである。DNA組み換

えはどこまでも理づめの技術である。しかし、最近の植物への遺伝子導入の報告の中には予想と大きく異なった結果を示しているものがある。植物は今までのDNA組み替えの主な対象である微生物よりも格段に複雑な機構を持っている。その機構を我々がまだ十分に理解していないせいであらう。この面からもDNA組み換えには未知な要素があり、将来育種にいかに関わりあってくるのか予測できない点が残されている。

(野菜・茶業試験場 育種第1研究室長)

耕耘作業の変遷と技術開発の方向

農林水産省農業研究センター編
A5判 132頁 定価1,200円 千250円

耕耘作業は近年農業機械化の進展に伴い、もっとも機械化、省力化が進んだ分野です。しかし、最近耕地の浅耕化が問題になるなど、耕耘作業の問題と今後の技術的対応の検討が迫られています。

このような時期に、農業研究センターでは調査研究を行い、その成果を取り纏めました。この成果は広く農業に関心を持たれる方々や、実際に営農にたずさわっている方々にとって極めて有益と思いますので、広く活用されるようお奨めいたします。

[主な内容] 第1編：稲作における耕深変化と技術的問題、第2編：畑作における耕耘作業の多様化と技術的問題、第3編：農耕様式の変貌に対応した技術開発の方向

発行所

社団法人 農林水産技術情報協会

千103 東京都中央区日本橋兜町15-6 (製粉会館内)
電話 03 (667) 8931(代) 振替 東京1-71476