

## バイオテクノロジーは農業を革新するか (8)

誌名	農業技術
ISSN	03888479
著者	川合, 一之
巻/号	40巻5号
掲載ページ	p. 193-197
発行年月	1985年5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



# バイオテクノロジーは農業を革新するか (8)

—「人工種子」と Ti プラスミドの開発—

川 井 一 之

## 1. 「人工種子」開発の動きと問題点

1) 人工種子の特許出願の2社 アグリジェネティクス・コーポレーション社は、いわゆる「人工種子」についての特許出願を日本の特許庁に申請した。その標題には「雑種作物の促成栽培と雑種種子の市場向け生産のための方法」となっていて「人工種子」という言葉は使われていないが、「人工種子」という言葉のほうが分かりやすい。

今年の1月、キリンビールは、米カリフォルニア州のプラント・ジェネティック社に資本参加(100万ドル、25万株)し、人工種子の共同開発を行うことを発表して、広くバイオ業界の注目を集めた。目下、アグリジェネティック社もプラント・ジェネティック社も、人工種子についての同じような技術を開発し、特許を申請中だが、どちらが特許をとるかは未定のようなのだ。

「人工種子」について野菜試験場の山川邦夫部長は、「組織培養により、完全な個体に発育しうる分裂組織を培養し、これを適当な方法で保護し、植物種子の代わりとして流通させるもの」という定義を与えている(『園芸分野におけるバイオテクノロジーの展開』、農業および園芸、第60巻、第1号、養賢堂、1985)。これを平たくいえば、植物の胚や組織を、水を含むゲルで包括し、さらにこれを水溶性樹脂で包んで作った種子に似たもの。このゲルの中に、植物ホルモンや殺菌剤、養分などを含ませ、胚が成長して植物体となるための必要な条件を具備することができるというわけだ。

自然の植物種子は、生長のもとをなす胚を栄養分に富む胚乳が囲み、その外側を種皮が被覆している。そして胚の先端には分裂して生長していく頂端分裂組織があり、この組織は将来1個の完全な個体を形成していく潜在能力(totipotency)を保持している。この植物種子の自然の原型を、人工的に作出しようとしたのが、プラント・ジェネティック社等の「植物種の類似物」、いわゆる「人工種子」のアイデアなのである。このアイデアを現実に可能なものとするために、近年の組織培養技術の発達が大きな貢献をもたらしたのである。つまり、自然の胚の頂端分裂組織と同じような totipotency

Kazuyuki KAWAI: Biotechnology and Agricultural Revolution (8). 農業技術 40 (5), 1985.

をもつ分裂組織(胚様体)を、試験管や培養槽の中で植物体の一部組織から大量に、迅速に作り出すことと同時に、この胚様体を栄養分や生長ホルモンの入った高分子のゼラチンおよびカプセルで包み(これが胚乳と種皮に相当する)、これを種子のように畑地に播けるようにしたもの、というわけである。

それから自然の種子とのもう一つの相異点は、自然の種子は交配現象の結果として得られるものだが、この「人工種子」は、必ずしも交配現象を必要とせず、植物の栄養体細胞ないしはその細胞群から直接的に、人工的に(実験室内で、つまりは工業的に作出が可能)得ることができるようにした点が、根本的な相異点として注目されねばならぬ点である。

わが国でも国立の野菜試験場に最近「種苗工学研究室」が新設され、人工種子に関する研究開発が本格的に開始される気運にある。

2) 種子戦争に新兵の出現 米プラント・ジェネティック社(P・G社)では、すでに「ゲル・コート」という名称で人工種子を商品化し、今年度は4万ドルの売り上げを見込んでいるようだ。この方法でセロリ、レタス、アルファルファ、アブラナ科等が実用可能という。目下、植物バイオテクノロジーに積極的な研究展開を図っているキリンビールは、ホップ、トマト、野菜などで、植物の胚を液体培養し、数千万個オーダーのクローン植物を生産する技術を既に確立しているといわれる。問題は、この増殖した胚から完全に植物成体を作り出すことと、その間に突然変異などが起こらぬようにこれを抑える技術、およびこれらの包装化を機械的に行う工程の開発が重要となり、これらがP・G社の「ゲル・コート」技術との提携のネライになっているものと思われる。P・G社は1981年に設立され、アルファルファとかトマトの種子とか、最近組織培養で作ったジャガイモの塊茎「NU-SPUD」を発売し、注目されている(日経バイオテク、1985年1月28日)。が、植物のバイオテクノロジーには長い研究開発の懐妊期間が必要なもので、これまでにかついな累積赤字を抱えているようだ。ここいらへんに「人工種子」でキリンビールと協定関係を結ぶ一つの経済的背景があるようにも思われる。

プラント・ジェネティック社は前記したように、目下「人工種子」の特許を出願中だが、これが成立する以前

にキリンビールがプラント・ジェネティック社と技術提携（資本参加）に踏み切ったネライとしては、この人工種子技術が完成した暁には、これを日本、アジア、オセアニア地域で販売する権利をキリンビールが一手に握るといふところにあつたものとみられている。

このように「人工種子」技術の出現は、燃えさかる種子戦争にもう一つ新兵器が投入されて火勢をいよいよ煽るような形になっているが、ここでそのメリットと問題点を、もう一度ふり返って眺めてみることにしよう。

3) 人工種子の利点と問題点 「人工種子」技術が有利に成立するためには、それなりのメリットが発揮される場合でなければならない。それにはどんな場合が考えられるかを次にみてみよう。

①種子繁殖ないしは栄養繁殖の植物でも、タネを大量に採取するために広大な採種圃場を要するとか、採種にたいへんな手間をかけなければならないような場合には、「人工種子」のほうが有利となる場合も考えられる。「人工種子」なら施設内で、機械化された装置で、能率的に低コストで量産することが可能となるからだ。

②種子採りを待たずに栄養生長期に「人工種子」がえられるので、従来方法よりも育種年限が短縮され、消費者の嗜好の変化に即応して新品種を提供できるという利点がある。また種子稔性のない作物には、もつてこの技術となるう。

③花が小型で種子の数が少ないため、質のよい  $F_1$  種子を量産することが難しいような作物でも、人工種子なら能率的に良質の  $F_1$  タネを量産することができる。

④従来、野菜や花、トウモロコシなどでは  $F_1$  種子が多く使われ、その両親を秘密に独占・確保していたが、「人工種子」では  $F_1$  個体から大量のタネが作出できるので、両親の秘密確保が不要となるといった基本的な変化が生じてくる点が注目される。

⑤イネやムギなどの自花受精作物では、 $F_1$  種子を作るのに雄性不稔系統や維持系統、稔性回復系統などの保存・維持・交配に多大な圃場と手間が必要であったが、「人工種子」でいけば採種過程が不要となるので、これらの諸系統の維持・確保・交配を特別にしなくともよくなり、 $F_1$  タネの量産が極めて容易になるといった大きな利点が考えられる。

⑥「人工種子」は、付加価値の大きい作物（洋ラン等の花とか高価な薬草、高価な果物など）に有利になると考えられる。コメやムギ・トウモロコシなどの主穀類では、需要量（または流通量）が莫大なのがかえって人工種子化を難しくするのではないか。種子単価が比較的安いことも、それを助長する方向に働くように思われる。

⑦胚様体を封入する高分子の中に、農薬とか肥料・除草剤・ホルモン・弱毒ウイルス等を封入する技術の促進が指摘されている。この場合、胚様体の代わりに自然の種子が利用されるケースも早く実用化されるのではないかと考えられている。

⑧  $F_1$  雑種でなくとも、たまたま生じた1本の優秀な突然変異株でも、「人工種子」によれば、それからタネを大量に生産しようといった大きな利点もある。また突然変異で発現した優秀な形質も、稔性の低下を伴うことが少なくなく（例えば加工用トマトの無側枝形質）、これが実用化の妨げとなるケースも多いが、こういう場合に「人工種子」は大きな威力を発揮するという指摘もある。

⑨「人工種子」の問題点としては、現状では、胚様体の発芽能力を十分長い期間保持することが難しいので、人工種子の許容流通期間が短くなるといった欠陥がある。この期間をいかに長くできるかが、「人工種子」の実用範囲を左右するこれからのカギとなるであろう。

## 2. 高等植物用のベクター開発の近況

高等植物への遺伝子組換えでは、遺伝子の運び屋（ベクター）の開発が一つの重要なキー・ポイントとなっている。最近アメリカの研究者たちによって、土壌細菌アグロバクテリウム・ツメファシエンスのもつ Ti プラスミドが双子葉植物のベクターとして有効であることが実証され、わが国の研究者たちもそれを確認した上、最近ではさらに一步を進めて、世界で初めて Ti プラスミドの「バイナリー・ベクター」法を開発し、目下特許を出願中だといわれる。これについては後章で詳しく触れることとして、その前に、高等植物に対するベクターの開発については、現在どのような研究が展開されているのかといった概況を眺めてみることにしよう。

1) カリフラワーモザイクウイルスの利用 植物細胞に利用できる有能なベクターとして、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) に対する期待がある。

CaMV を植物のベクターとする場合には、アブラムシで伝搬されないようにする必要がある。農水省の研究所では、すでにアブラムシに非伝搬性の CaMV を作出している。例えば CaMV を紫外線処理して、アブラムシによって伝達されない突然変異株のウイルスを作出している。これは、すでにアメリカで発見されている非伝搬性の CaMV とは異なったウイルスであることが証明されている。

CaMV は分子量が小さいので、細胞の中で数倍というコピーが作れ、組み込んだ遺伝子の発現の効率が高く

なるといった利点がある。と同時に、問題点もある。例えばベクターとして運べる外来遺伝子が250塩基以下と短くしなければならず、その点を解決するためCaMVの裸のDNAを使えば、こんどはそれが植物細胞に導入される比率が大幅に低くなるといった点が問題となってくる。このほかCaMVには適当な選択形質が発見されていないなど、ベクターとしての利用開発には、まだまだ解決しなければならない問題点が多くあるようだ。

2) 葉緑体DNAのベクターへの改良 現在、植物のベクターとしてはTiプラスミドのほかに、カリフラワーモザイクウイルスと、植物の葉緑体DNAの利用開発が進められている。

京大農学部の研究グループは、ゼニゴケの細胞から葉緑体のDNAをベクターにする研究を進めている。あるDNAをベクターにするには、遺伝子の形質を発現するプロモーターと、ベクターDNAの自己複製の起点である複製開始点の二つが必要だとされている。ゼニゴケの葉緑体のDNAの中には、強力なプロモーターがあるものと推定される。また最近では電子顕微鏡で複製開始点の存在が確認できるようになってきているので、目下葉緑体のDNAから複製開始点を発見する努力が進められており、やがてはこれらを切り出してベクターの形成に利用されるようになるものと思われる。

### 3. Tiプラスミドの開発すすむ

1) 除草剤耐性の植物の育種 米ウイスコンシン大学とアグリジェネティクス社の協同研究で、マメの種子たんぱくを作る遺伝子を、Tiプラスミドをベクターとしてタバコの細胞の中に導入することに成功した。この種子たんぱく遺伝子が導入されたタバコの細胞は、再生して植物体を形成しているが、たんぱく質の産生は植物体の全細胞で発現するのではなく、種子でのみ発現していることが確認されている。

タバコはよく遺伝子工学の材料に使用されるが、このタバコで確立された技術は、世界の主要な飼料穀類に向けて応用が試みられている。例えば、マメはメチオニンの含量が低いので、それだけ栄養の質を下げているが、メチオニン含量の高いたんぱく質を作る遺伝子を、Tiプラスミドを使って飼料穀類に組み込む研究が、目下積極的に進められているというわけだ。

西独マックスプランク研究所のシェル教授(Jeff Schell)は、こう言っている。「現在では、外来遺伝子をTiプラスミドを使って双子葉植物に組み込む技術は、ほぼ確立されたといえる。これからは、学問的あるいは産業的に価値の高い遺伝子をクローン化して遺伝子組換

えに利用する時代に入ったといえるだろう。」と(日経バイオテク、1984年9月10日)。そして、すでにその兆候が現れ始めている。

例えば、米カルギーン社とモンサント社では、除草剤に抵抗力をもつ(除草剤耐性)作物の育種と取り組んでおり、すでに薬剤耐性遺伝子をクローン化して、これをいろいろな植物細胞に組み込んで、薬剤耐性を細胞で形質発現させるケースに、いくつか成功しているという情報もある。

またカルギーン社では、除草剤のグリフォゼートに耐性をもつサルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*)から、毒性を分解(解毒)する酵素(EPS)を作る遺伝子をクローン化し、このEPS遺伝子とそのプロモーターとを結合させ、これをTiプラスミドに結びつけて、カブやタバコの培養細胞に導入し、細胞レベルで除草剤耐性の形質が発現されたことが確認された。カルギーン社はこの細胞からタバコの成体を再生することにも成功し、目下個体レベルで除草剤への抵抗力が獲得されているかどうかを試験中だという。一方、モンサント社でも、スイスのチバガイギー社が開発した除草剤のアトラジンやその他の除草剤に耐性をもつペチュニアやトマトその他の育成に懸命な努力を傾注しつつある。

このように、微生物のもつ薬剤耐性遺伝子を取り出しクローン化して、これをいろいろな植物にTiプラスミドを使って導入し、薬剤耐性植物を育成する研究が、あちこちで広く行われるようになっていきている。また、カナマイシン耐性などのように、他の外来遺伝子と結合させてTiプラスミドにはめ込み、遺伝子組換えがうまくいったかどうかを、細胞レベルで判定し選別するというマーカーとしての利用場面にも有効に利用されていることは注目される。

除草剤アトラジンの耐性植物については、わが国でもタバコ(京大農学部)その他で確認されているが、もう一つ、2年前にイスラエルの研究グループが、アトラジン耐性のイヌホウズキを作り、これとジャガイモを細胞融合して、除草剤耐性をジャガイモに移す研究を公表して、注目を集めている。染色体では複2倍体(24+24)が確認されているようだが、かんじんのイモが形成されず、実用品種の育成にはまだまだ難問を残しているようだ。

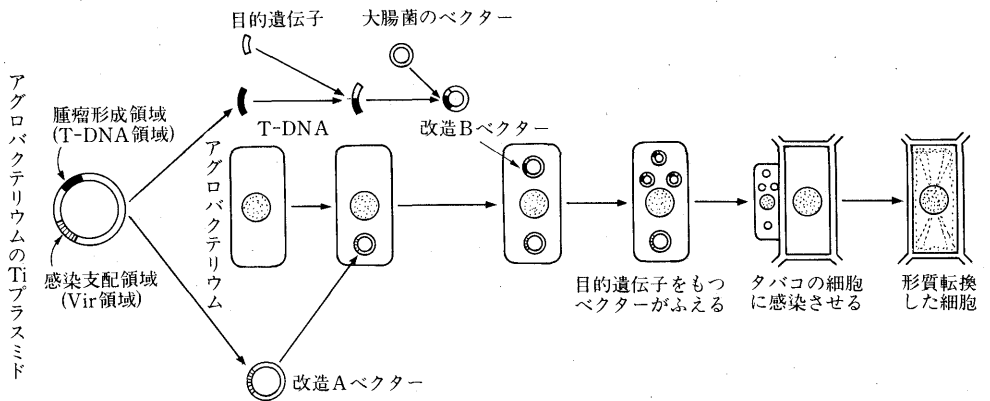
2) 単子葉植物にも有用なTiプラスミド Tiプラスミドの利用開発の研究が進むにつれて、遺伝子の供与体が微生物から植物にまで広がるばかりでなく、それを組み込む宿主も双子葉ばかりでなく、最近では単子葉植物に対しても有効だということが明らかとなってきて、遺伝

子組換えの実用化の可能性が、はるかかなたから大幅に近寄ってきたともいうことができるようだ。それを証明したのが、米リデン大学の研究グループと西独マックスプランク研究所のシェル氏その他のグループの業績である。

リデン大学の研究グループは、先般、オクトピンを産生する遺伝子を Ti プラスミドにはめ込み、これをユリやヒガンバナに導入して、外来遺伝子が形質発現することを証明し注目されていたが、最近、西独のシェル氏、レルツ氏、ヘルナルステーンズ・ベルクルム氏らは、大腸菌から取りだしたカナマイシン耐性遺伝子を Ti プラスミドを使って、ユリ、アスパラガス、コムギ、イネに導入し、単子葉植物にも Ti プラスミドが有用なベクターとして使えることを証明し、高等植物における遺伝子組換えに大きな可能性の道を拓くこととなったわけだ（「京都バイオサイエンス・シンポジウム、植物細胞育種と細胞工学」、京都大学主催）。シェル氏らの実験手法には次の2通りがあるという。

その第1は、ユリとアスパラガスに対して使われた方法で、まずカナマイシン耐性遺伝子の upstream にノパリン合成遺伝子のプロモーターをはめ込み、また下流にはノパリン合成遺伝子の A 結合部位をもった Ti プラスミドを接合して、調整されたアグロバクテリウム・ツメファシエンスを作った。そして、ユリやアスパラガスの植物体を切断し、その断面に調整済みの Ti プラスミドをもったアグロバクテリウム・ツメファシエンスを塗りつけ、その断面から生じたカルスから芽を発生させ、この芽を分離し培養して個体を再生させた。かくしてえられたユリとアスパラガスには、導入した一連の遺伝子が挿入されていることが確認されている。これが種子にまで受け継がれていくかどうかの確認は、これからの問題として今後に残されている。

さて第2の方法は、コムギとイネに対してとられたもので、コムギとイネの培養細胞をプロトプラスト化し、これに前記した調整済みの Ti プ



植物の組み換えDNA用「バイナリー・ベクター」の開発

ラスミドでカナマイシン遺伝子をコムギとイネのプロトプラストに導入し、細胞壁を回復した細胞にカナマイシン耐性が発現していることを確認した。しかし、コムギとイネでは、かくして組換えに成功した培養細胞から植物個体を再生させるまでには、今のところ至っていない。

3) 世界で初めての「バイナリー・ベクター」の開発

これまで見てきたように、アグロバクテリウム・ツメファシエンスの Ti プラスミドの利用開発によって、双子葉植物ばかりでなく単子葉植物への遺伝子組換えの道が拓かれてきたことの意義は大きい。これによってイネ、ムギ、トウモロコシ、その他の飼料穀類、言い換えれば主要な主穀類が、遺伝子組換えの対象として可能性をもつようになってきたからである。しかし、可能性が拓けてきたからといって、それが直ちに容易になったというわけではない。まだまだ技術的な困難性が数多く残されているのである。例えば、目的とする供与体の遺伝子がどの染色体のどの位置にあるかという染色体地図の解明（これは主要穀類の主要生産形質については、ほとんどまだ手がけられていない）とか、遺伝子組換えの成否をできれば細胞レベルで確認できるマーカー（標識）の開発、Ti プラスミドの取り扱いの簡易化その他の難題が残されており、植物の遺伝子組換えの実用化にはかなり長い懐妊期間が必要だといわれるゆえんが、この辺にあるともいえる。

ところで最近、この Ti プラスミドの取り扱いの簡易化を促進する注目すべき研究成果が、筑波農林研究団地の農業生物資源研究所の研究グループによって開発されたことが、広く注目を集めている。「バイナリー・ベクター」といわれるものがそれである。

というのは、Ti プラスミドはもともと大きなDNA分子であるので、目的遺伝子を組み込むため Ti プラス

ミドの輪を制限酵素を使って開孔しようとする、沢山の個所でDNA分子が細断されて、なかなか取り扱いが難しくなる。そこで、Tiプラスミドに目的の遺伝子を挿入する場合には、直接制限酵素でTiプラスミドを切断するのを避けて、別の適当な大きさのベクターを中間的に使って、まずこの中間ベクターに目的遺伝子をはめ込み、細菌内でこの中間ベクターからTiプラスミドに目的遺伝子を自然に乗りかえさせて、その後このTiプラスミドを宿主の植物体に導入するという回りくどい方法がとられていた。

今回開発された「バイナリー・ベクター」方式というのは、この大きなDNA分子のTiのプラスミドをそのままベクターとして使うのではなく、まずこれから腫瘍形成領域(T-DNA領域)を分離して取り出す。そして残ったTiプラスミド、つまり感染支配領域(Vir領域)をもつ小型のTiプラスミドを使い、これをアグロバクテリウム・ツメファシエンスの中に導入しておく。さて分離したT-DNA領域に、今回目的としたカナマイシン耐性遺伝子を組み入れ、かくして作った小片DNA

を、別途大腸菌から取り出したベクターの中にはめ込んで小型の改造ベクターを作り、このベクターを、さきに感染支配領域をもつTiプラスミドを導入してあるアグロバクテリウム・ツメファシエンスに導入すると、目的遺伝子をもつ小型ベクターが菌細胞の中でどンドンふえてくる。かくして小型の二つのプラスミドを導入したアグロバクテリウムをタバコの葉に接種したところ(図参照)、カナマイシン耐性遺伝子の形質がタバコの葉で発現することに成功したのである(井上元『植物への新しい遺伝子注入方法“バイナリー・ベクター”』AFF3月号, 1985)。

この「バイナリー・ベクター」方式は、遺伝子の組換えを従来のものよりはるかに容易にするだけでなく、目的遺伝子をもつ小型ベクターがアグロバクテリウムの中で沢山にふえ、それが植物の染色体の中に組み込まれる効率が大きく高まるという効果をもつものであり、世界に先がけてこのような新方法がわが国で開発されたということは、特筆さるべき業績として高い評価に値するものといえる。(農林水産技術情報協会研究顧問)

## 北農試から東北農試へ⑥

松実成忠

昭和31年欧州でてん菜が大減産となり、スエズ動乱も重なって砂糖が暴騰した。その時期はまた、わが国農業とくに畑作農業の振興が重要な課題とされ、甘味資源の自給力向上と畑作農業の振興をはかるための「甘味資源自給力総合対策」(34年1月)がたてられた。

この中で、需要量152万tのうち約1割程度の砂糖自給力を、10年後の43年には、約5割の75万tまで高めることを目標とした。うち40万tをてん菜糖として、30万tは北海道、残り10万tは東北と西南暖地のてん菜生産によることとし、甘蔗糖を20万t、いも澱粉よりのぶどう糖を15万tと計画した。てん菜糖増産対策のために試験研究の強化が唱われ、34年11月てん菜振興会が設けられ、その傘下の試験研究機関としててん菜研究所が35年札幌に、翌36年には支所が熊本に発足した。

こうした背景があって、昭和32年から東北地域へのてん菜導入試験が東北農試を中心に各県農試で始められた。35年には青森県六戸町に製糖工場が建設され、行政的にも北東北の畑作地帯がてん菜生産振興地域に指定されて農家によるてん菜栽培も始められた。だが、企業や行政が期待したようには生産は伸びなかった。主産県である青森県が38年の3,560haを最高に41年には2,330haに減少し、岩手県が950haから1,360haに増えたものの、両

県合わせても作付けは4,540haから3,690haに減退した。

てん菜糖工業においては、一工場当たりの集荷原料は最低限15万tなければ成り立たないという。六戸工場の場合、青森、岩手の両県を合わせた集荷量は、38年、39年が10万t弱、40年が12万t、41年は10.6万tであった。

42年3月、製糖企業は原料不足で採算がとれないとの理由で工場の閉鎖を決定した。そのことは東北地域でのてん菜栽培の打ち切りにつながるが、東北知事会はやむをえないこととして了承し、農林省に対しててん菜栽培打ち切り後の善後措置を要請していた。同年4月の農林水産委員会での論議は、既に東北てん菜をどうするかという段階を過ぎていたが、野党委員はその継続を強く求めた。それに対して倉石忠雄農林大臣は、東北知事会の申し出があったので、打ち切り後のことは十分な措置を講じたいとの答えて終始した。その時印象深かったのは、青森県の米内山義一委員の発言であった。「北海道のてん菜作は今日立派に定着しているが、それには手厚い保護政策のもとで約半世紀の歳月がかかっている。新しい作物が農業の現場に定着するには、このように長い年月を要するものである。しかるに、東北のてん菜は導入以来わずか10年足らずで打ち切ろうとするのはどうか。政府はなんらかの手段を講じて、その継続をはかるべきではないか。」と。私には正論だと思われたが、議論はすれ違いに終わり、東北のてん菜は姿を消すことになった。(まつみ・しげただ 元東北農業試験場次長)