

# バイオテクノロジー研究の現状

農林水産省農業技術研究所生理遺伝部 小林 仁

## 1. はじめに

生命現象と生物機能の解明を目指したライフサイエンスは日新月异しており、その応用であるバイオテクノロジー分野もすさまじい勢いで発展し、時代の脚光を浴びている。とくに組換えDNA技術やハイブリドーマの利用は進歩が速く、すでに医療福祉面で実用段階に達しているものも少なくない。バイオテクノロジーは医療面だけでなく、近い将来、化学工業、農業生産、食品産業、エネルギー資源産業、環境保全などきわめて広い分野で画期的な展開をみせるものと期待され、活発な研究が世界的な規模で推進されている。ここではバイオテクノロジーの発展過程を概観し、他の分野にくらべると進歩の度合は遅々としているが、植物育種に関連したバイオテクノロジー研究の現状を紹介したい。

## 2. ライフサイエンスの発展

生命現象の本体がDNAであることを明らかにした分子遺伝学は、過去4分の1世紀の間に爆発的ともいえる発展をとげ、遺伝子の構造と遺伝情報の仕組みを分子レベルで一つ一つ解明してきた。1960年代にはコドン(遺伝子暗号)が解読され、遺伝子DNAから伝令RNAへ、伝令RNAからタンパク質へと遺伝情報が転写、翻訳される過程の基本的部分が明らかにされた。分子遺伝学の研究材料は、主に生物個体として

もっとも簡単な細菌(原核細胞)やウイルスであった。1970年代に入り、遺伝子の構造つまりDNAの塩基配列を効率的に決定できる方法が開発されたことにともない、研究対象範囲が高等生物(真核生物)にまで拡大されるようになった。その結果、原核細胞と真核細胞とでは大きな違いのあることがわかってきた。たとえば、細菌の遺伝子はいわゆるオペロンの構造をとり、オペレーター、プロモーターなど各单位遺伝子は区切られているが、タンパク質の一次構造すなわちアミノ酸の並び順を指定する構造遺伝子は、連続したヌクレオチド暗号文として存在している。これに対して高等生物の遺伝子では、ヌクレオチド暗号文の途中で翻訳されない塩基配列が遺伝子を分断する形で介在していることがわかってきた。また、高等生物の染色体を構成しているDNAには、このような介在配列のほかにも発生や分化などの制御機構に関与する塩基配列、つまり遺伝子暗号として使われない広い領域のあることも見出されてきた。このようにして分子遺伝学を軸として発展を続けてきたライフサイエンスは、DNAの二重らせん構造を出発点として微生物を用いて遺伝の基本を明らかにし、急速に新しい知見を加えつつ、いまや高等生物におけるDNAの高次構造の変化と遺伝情報の発現との関連を精力的に追求している状況にある。

### 3. バイオテクノロジーの台頭

ライフサイエンスの進展により生物のもつ精妙巧緻な構造や機能が解明され、1970年代の後半には交配によらないで遺伝子を組換える遺伝子操作技術、すなわち、組換えDNA技術や細胞融合技術が生まれた。狭義のバイオテクノロジー(ニューバイオテクノロジー)の台頭である。人類はこれまでも生物機能を利用して食糧や工業原料などを生産してきたので、文字どおりのバイオテクノロジー(生物技術)は本質的には新しい行き方とはいえない。しかし、生命現象の本体がDNAであり、そのDNAを操作する道が開かれたことから、生物生産を飛躍的に高める革新的技術が誕生したといえよう。この技術がいちはやく実用化しはじめたのは医薬の生産分野であり、昨年9月には微生物の遺伝子操作によって生産された人間のインシュリンが米国で医療に用いられたのを皮切りに、インターフェロン・成長ホルモン・アルブミン・各種ワクチンなど多くの薬品が作られ、目下臨床実験や動物検定に付されている。この分野は、生産効率の改善や製品の精製法の開発など、技術上の改良とともに今後ますます発展するものと思われる。当面の研究課題はいかにして特定の異種遺伝子(たとえば必須アミノ酸であるトリプトファンを合成する遺伝子)を切出し、その遺伝情報をうまく発現させる形で微生物の環状DNA(プラスミド)にはめこむかであり、また対象産物の効率的精製法の開発も緊急の課題である。理論上は容易でも実際の物質生産面では技術上の問題が多い。ごく最近、大腸菌の中で作り出されたタンパク質を体の外に分泌させる遺伝子が日本で発見され、有用物質の分離・精製の効率化に寄与するものとして注目されている。

医薬品生産に関連したバイオテクノロジーに

ついてふれたが、生物遺伝情報を分子レベルで改変できる対象範囲は実はまだごく一部に限られている。あらゆる生物の遺伝子は、共通しているとはいえ試験管を用いた遺伝子操作ができるようになったのは細菌だけであり、それも主染色体DNAではなく、構造が比較的単純な核外遺伝子だけである。主染色体DNAの操作については生体内遺伝子操作として、一般的組換え現象や転移DNAあるいは細胞融合などを利用する形で広範にわたる研究が急速に進んでいるが、実用段階に達するにはまだ相当長い年月を要するものと思われる。

### 4. 植物の遺伝子操作

現行の育種は、交配による遺伝子の組換えや突然変異を利用して、収量・各種抵抗性・成分などの改良を行なっているが、その効率は必ずしも高いとはいえない。また、遠縁の特定遺伝子のみをとりこむことはほとんど不可能である。

このようなことから、特定の遺伝子を組込んだり取除くことが可能な遺伝子操作技術を植物育種に応用できたら、革新的な作物や品種を育成できるのではないかと期待されるようになった。そこで、微生物の遺伝的改変を可能にした組換えDNA技術や細胞融合法を植物の育種に利用しようとする研究が着手された。理論的には全形成能をもった植物の培養細胞を細菌を扱う場合と同様に操作し、遺伝的改変を加えた細胞から個体を再分化させればいいわけである。ところが、実際にこのようなことが可能かというところ、現段階ではまだ実験的に成功した1,2の例が報告されているだけで、実用化には多くの未解決の問題が残されている。

組換えDNA技術によって植物に形質転換を起こさせ、それを証明しようとする試みが先陣

を争う形でいま世界各地で行なわれている。

植物にコブをつくるアグロバクテリウムとよばれる細菌がある。この細菌が植物に感染するときに核外遺伝子の Ti-プラスミドが核内に入り、T-DNA と呼ばれる部分が染色体 DNA に組込まれることが知られている。この現象は、自然が行なっている遺伝子操作そのものである。多くの研究者はこの現象に注目して、Ti-プラスミドをベクターにして植物における人為的な形質転換を証明しようとしている。そのために、Ti-プラスミドの物理地図の作成、塩基配列の調査、ベクターとしての再構成、T-DNA 部分へ異種遺伝子の組込み、さらに植物の培養細胞への取込み、個体再分化、遺伝変異の調査といった分子・細胞・個体の各レベルの操作が精力的に行なわれてきた。そしてついに、1982年にタバコ・ジャガイモ・トマトなどで人為的な形質転換に成功した。この実験結果は、ドイツのシュルらによって報告された。同様な研究は、フランスのチルトンがトマトで、アメリカのカドがジャガイモで、またアメリカのロバーツらは植物細胞に細菌の遺伝子を挿入して形質転換を起こさせたことを報告している。最近シュルらは、植物の光合成に関与している遺伝子の一部と異種遺伝子を結合してタバコの細胞に組込み、形質転換を起こさせることに成功した。このように、植物でも組換え DNA 技術が有効なことが多くの研究者によって証明されつつある。しかし、これらの実験が成功したからといって、ジャーナリストが報じているように、組換え DNA を利用した実用的な植物育種が可能になったことを意味するものではない。それどころか、見方によってはこれらの実験は、有用形質を対象とする植物の遺伝子操作がいかに困難であることを示唆しているともいえる。こ

こで用いられた実験材料も対象形質も極めて特殊なものであって、植物で形質転換が証明されたからといって、それが直ちに育種に結びつくとは限らないからである。多くの遺伝子に関与する実用形質については、形質自体の分子レベルでの解析が未着手であるばかりでなく、植物用のベクターの開発、植物細胞（プロトプラスト）の培養系、形質転換細胞の識別法、個体再分化法など、どれ一つとってみても実際の育種に使えるような段階には達していない。現段階におけるこの分野のバイオテクノロジー研究は、実用的観点というよりも研究者のいわば知的関心にもとづいて研究が進められているのが実状であり、作物の収量性や成分あるいは各種抵抗性を大幅に改良した革新的な新作物や新品種の育成は、かりに実現するとしてもかなり先のことになるといわねばなるまい。ただ、この分野の一連の研究の中から現行育種を効率化する上で有効な部分技術、たとえば分子レベルの知見にもとづく遺伝子分析とか遺伝子源の同定・評価法などの新技術が生まれる可能性は高いといえよう。

## 5. 細胞・組織培養研究の現状

植物の組織培養技術は、バイオテクノロジーという言葉が生まれるずっと以前、すなわち今世紀はじめから研究されはじめ、着実に進歩してきた。その一部は20年ほど前から作物育種にも取り入れられ、現行育種の効率化に寄与している。培養対象は、はじめは根とか茎といった器官であったが、培養条件の改善とともに器官から組織、組織から細胞群（カルス）や単細胞、そして裸の細胞（プロトプラスト）へと培養単位が技術の進歩とともに小さくなり、生命の最小単位である細胞までたどりついた。

プロトプラストは、異種間でも融合するし高分子物質を取込ませることもできる。タバコやバレイショなど一部の植物では、プロトプラストの大量作出、細胞培養、個体再分化法などがほぼ確立している。プロトプラストが微生物と同じように操作できることから、微生物で開発された組換えDNA技術を植物にも適用しうのではないかと期待されるようになった。遺伝子操作を加えたプロトプラストは、細胞培養、組織培養の技術を適用して、植物体までもってゆくことが可能である。このようなことから、遺伝子操作とは直接関係ない一般の組織培養技術までもバイオテクノロジーの一つとして取り扱われるようになったのである。バイオテクノロジーの本来の定義から多少逸脱するが、ここでは一定期間の無菌条件すなわち容器培養を必要とする技術をすべてバイオテクノロジーに含めて紹介することにしたい。そのような技術は従来組織培養と呼ばれてきたが、培養の主対象は近年組織から細胞になってきたので、細胞培養といった方がより適切な表現といえる。まだ定義も実体もあいまいであるが、植物育種技術と細胞培養技術の接点に「細胞育種」の分野が開拓されようとしている。以下育種技術の分野別に研究の現状を述べる。

#### 〔遺伝子源の保存〕

茎頂培養を用いて無病化した小植物体を遺伝子源として試験管保存する技術は、バレイショ・カンショ・キャッサバ・イチゴなどですでに実用化している。この技術は、栄養繁殖作物の国際間の遺伝子源交換にも一部利用されて、植物防疫上高く評価されている。プロトプラスト、遊離細胞あるいは茎頂を液体窒素を用いて $-196^{\circ}\text{C}$ で半永久的に保存し、必要に応じて植物体を再生させようとする凍結保存法の研究が行なわ

れている。遺伝子源の凍結保存法についての当面の重要研究課題は、より有効な凍結防止剤の探索・開発にむけられている。

#### 〔遺伝変異の拡大と固定〕

生育途中に崩壊する遠縁間の雑種胚を崩壊直前に切り出して培養し、雑種植物を得る胚培養技術は、多くの種間交雑育種に用いられ効果をあげている。胚培養は、種子の休眠性を打破したり、発芽力を失なった古い種子から植物を得るのにも有効であることが知られ、変異の拡大だけでなく、育種年限の短縮化や遺伝子源の範囲拡大にも利用価値が認められている。胚培養と同様な発想と手法で、試験管受精、胚珠培養、子房培養などの技術開発も各種作物について行なわれている。

葯・花粉培養による半数体作出について、タバコやイネなど一部の作物の育種に利用されている。この技術については、半数体作出の効率を高めるために各種の研究がなされている。たとえば、低温・減圧・嫌気・水培養・浮遊などの処理で、胚発生率を高めつつある。培養細胞に生じる変異を解析し、育種に利用する研究も各種作物で行なわれ、有望系統を育成した事例も年々増加している。たとえば、フィジーでサトウキビ育種にこの手法を取入れてすでに4品種も育成を終わり、わが国でもイチゴ・フキなどで有望系統が選出されている。このような例は、組織培養技術を軸とする細胞育種が実用段階に入ったことを示しているといえよう。培養中の体細胞に化学薬品(PFP)を処理して染色体を減数させることが、イネ・イチゴなどで成功し、染色体操作法の一つとして注目されている。

細胞融合法については、ポマトの作出がセンセーショナルに取り上げられたために各方面か

ら注目されてきたが、実際の育種面での有効性は不要遺伝子の除去が困難なことや雑种植物が不稔を示すことなどから疑問視するむきもある。しかし、すでに述べたように細胞融合法は、遺伝子操作技術の一環として重視すべき手法であるので、各種作物のプロトプラストの分離や培養条件について詳細な検討が行なわれている。また、体細胞雑種細胞を効率的に選抜する手法として、栄養要求性やアミノ酸アナログ抵抗性などが選抜マーカーになることが示されている。プロトプラストの分離・培養が可能な植物は現在50種をこえ、広範な研究が続いている。細胞操作技術については、動物細胞を用いた研究がかなり進展しているが、植物細胞でもプロトプラストにすれば動物細胞と同様に扱えることから、植物の細胞操作面での今後の研究の発展が期待される。プロトプラストを宿主系とする形質転換については、ライフサイエンスの一環として分子生物学者を中心に精力的な研究が展開されており、Ti-プラスミド以外の新しい植物用ベクターの合成などが試みられている。

#### 〔変異細胞の選抜〕

細胞レベルである程度の選抜が可能になれば、現行育種の効率化に寄与するところが極めて大きい。通常、1 ml/当り10万個のオーダーで細胞を取り扱えるからである。現時点では、培養細胞集団から有望形質を自由に選抜できるところには達していない。細胞選抜が確実なのは薬剤耐性や栄養要求性だけであって、低温抵抗性や各種のストレス抵抗性など大部分の実用形質の選抜法の開発は今後の課題である。育種上の数少ない成功例としては、タバコの野火病抵抗性、ピクロラム（除草剤）抵抗性、サトウキビのeye spot 抵抗性、トウモロコシのごま葉枯病抵抗性、ニンジンアルミニウム抵抗性、ト

ウモロコシのアミノ酸含量などの形質で、耐塩性や冷害抵抗性などについては精力的な研究にもかかわらずまだ確実な成功例は得られていない。

細胞レベルでの選抜については、世界的にみても研究が緒についたばかりで、今後の研究の発展に期待するところが大きい。細胞選抜技術は、現行育種に直接役立つばかりでなく、組換えDNA技術や細胞融合法の育種応用上も不可欠の技術の一つであるので、遺伝子操作技術を用いる将来の育種にとっても極めて重視すべき研究分野である。

#### 〔品種の維持と増殖〕

組織培養技術を利用した洋ラン類の大量増殖法は1960年代に実用化し、その後生長点培養によるウイルスフリー化技術と結合して、栄養繁殖作物の良苗大量増殖法として農業生産に大きく寄与しつつある。最近における大量増殖法の適用例としては、とくに球根花卉類や観葉植物・果樹類(矮性台木)など広範な作物で実用化が進んでいる(写真参照)。この分野の技術面では、

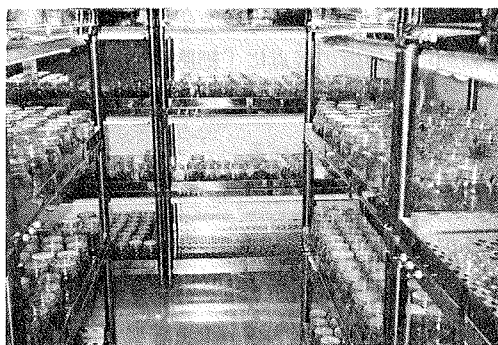


写真 組織培養によるウイルスフリー果樹の大量増殖状況

【写真提供：中島天香園(山形県東根市)】

液体振とう培養法による増殖効果の向上が最近注目されている。また、ウイルスフリー化技術も、バレイショ・サツマイモ・ブドウ・チェリーなど栄養繁殖作物に広く利用され、すで

に定着した技術となっている。

未確認情報であるが、米国で組織培養技術を用いて大量増殖したセロリーの茎頂を微生物やアミノ酸などでコーティングしてカプセル状にし、人工種子として市販されはじめたという。もし事実とすれば、育種上きわめて重要な意味をもつ技術である。

## 6. お わ り に

植物育種におけるバイオテクノロジー研究を中心に概観してきたが、一口でいえばこの分野の研究は理論上の可能性(ストーリー)があまりにも先行しているのが実状である。植物細胞の再分化技術一つをとってみても、ある程度自由にコントロールできるタバコやニンジンの場合

はむしろ例外であって、大部分の植物については全形成能を制御するのはかなり困難または不可能な技術段階である。分子レベルの知見が急速に蓄積しているので、やがてはジャーナリストが伝えるような画期的品種がバイオテクノロジーによって生まれる可能性はあるが、この夢が実現するにはまだまだ多くの地道な研究を推進しなければならない。農水省では、12月1日から研究体制の一部を再編強化して遺伝子源部、分子育種部、細胞育種部、機能開発部を含む農業生物資源研究所が発足する。研究成果が着々と生まれ、植物育種面でもバイオテクノロジーを充分生かせる時代を迎えることを期待して止まない。

# 世界の主な国における 芝生の雑草とその防除の現状(2)

宇都宮大学雑草防除研究施設 竹松哲夫・竹内安智

## 6. 日 本

日本で芝草として利用されているものは、東北以南～沖縄までコウライシバ(*Zoysia matrella*)とノシバ(*Zoysia japonica*)、沖縄ではこれらにバミューダグラスも加わり、北海道ではケンタッキーブルーグラスとベントグラスである。コウライシバは、公園・庭園・競技場やゴルフ場で使われ、ノシバはこれらのほかに飛行場・道路法面や河川堤防の法面保護に利用される。バミューダグラスは、本州でも昭和40年代にアメリカからティフトン種が導入されたが、生長が旺盛でマット化しやすいため、

ゴルフ場では栽培を中止した。しかしながら、コウライシバ中にまざり、それを圧倒しており、選択的防除が望まれている。ケンタッキーブルーグラスは、常緑の多年草で、牧草としても栽培される。北海道や本州の寒冷地では、公園・競技場・ゴルフ場のフェアウェイで利用されるほか、地表面保護用としても使われる。ベントグラスは、北海道のほかに、本州のゴルフ場グリーンで利用される。

日本の芝生の雑草を表11に示した。これらのなかでも、タデ類・スイバ・ギシギシ類・スベリヒユ・ツメクサ・ハコベ・ヤハズソウ・シロ