

植物細胞培養の創始者

東京大学・法政大学名誉教授

長田 敏行

植物細胞組織培養が植物バイオテクノロジーの基礎となっていることは今更指摘すべきことではないと思う。そのアイデアはハーバーラント (Gottlieb Haberlandt, 1854-1945) により出されたとされている。しかし、筆者はその出発の概念とされていることがかなり無批判に、また、誤解も伴って語り続けられていることに兼々疑問を感じていた。なぜそう思うかの根拠も含めて紹介して、今回の話題としたい。

ハーバーラント

植物組織培養の出発が、1930年代のロックフェラー研究所ホワイト (P. White) やパリ大学ゴートレー (R. Gautheret) であることは確定された事実であり、それが植物ホルモンオーキシンの発見を背景にしていることも広く認められている。それに関して常に触れられていることは、培養の発想の原点はハーバーラントの論文とされている (Haberlandt 1902)。即ち創始者はオーストリア グラーツ大学のハーバーラント (図-1) ということになる。ところが、彼の葉肉細胞培養の試みは決して実験的に成功したわけではないのに、その後植物細胞組織培養の創始者として言い続けられている



図-1 ハーバーラント

植物細胞培養のアイデアはグラーツ大学の時代になされたが、その業績により、後ベルリン大学教授に招聘された。

ことは学説としてはかなり例外的であると言えよう。問題は、その言説がかなり無批判に、あたかも常套句のように言い続けられていることである。この一つの原因はハーバーラントの論文がドイツ語で書かれているので、内容を吟味して引用されているのではなく、かなり形式的に引用され続けられていることである。65年後に、クリコリアンとベルケム (Krikorian and Berquam 1967) が英語に翻訳したので、その難点は回避された。ところが、添えられている訳者らの評言が時代の意見を反映しているためか不相当と思われるので、問題は一向に解決されていないと思えるのである。いわく、「ハーバーラントは葉肉細胞を用いたので培養に成功しなかった」と翻訳に添付されている論文で述べているのであるが、それは以下に具体的に示すように、筆者の経験を基にすると誤りであると思えるのである。

細胞培養のその後の発展：分化の全能性

ホワイト、ゴートレーの後、分野の発展はサイトカイニンの発見によりもたらされた。即ち、スクークとミラー (Skog and Miller 1957) によるオーキシンの量比で、莖葉分化、根分化、カルス成長するという分化の全能性の発見である。さらに、シュワードら (Steward et al. 1958) によるニンジンなどでの胚発生様式による分化も、もう一つの発見であり、応用的にも重要な貢献をもたらした。その直後にこの研究領域に足を踏み入れた筆者はタバコ葉肉プロトプラスト培養の試みを始めたのであるが、その頃の常識としては葉の細胞は培養困難であるといわれていた。実際、1968年時点で葉の細胞の成功例はピーナッツ (*Arachis hypogaea*, マメ科) とタケニグサ (*Macleaya cordata*, ケシ科) で葉の細胞培養の例があったが、それらは例外的な観察とみなされていた。そして、筆者ら (Nagata and Takebe 1971) は当初は難航したものの、葉肉プロトプラストの培養を極めて順調に行うことができ、図-2に示すようにほとんどの細胞でコロニー形成が達成されることを示した。また、それらのコロニーを再分化培地に移すと、それらのすべてから植

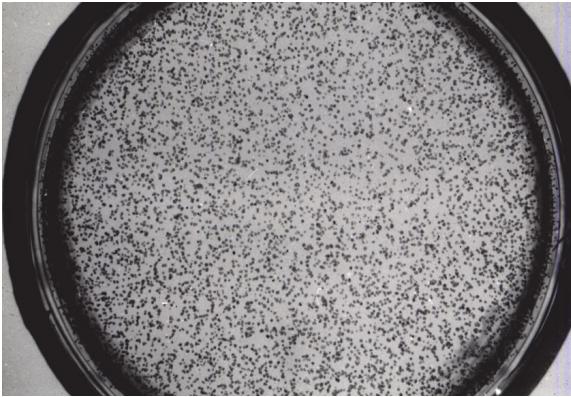


図-2 葉肉プロトプラストのコロニー形成

タバコ葉肉プロトプラストをソフトアガー培地に埋め込むと、至適条件では80%はコロニーを形成した。

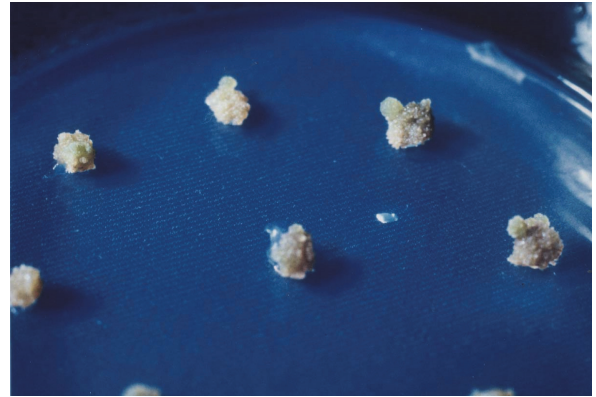


図-3 コロニーからの植物体再生

図-2のコロニーを再分化培地に移すとそれらは全て茎葉を形成し、続いて植物ホルモンを含まない培地へ移すと発根し、幼植物となった。

物体が再生されたのである(図-3)。葉肉細胞は至適条件ではむしろ他器官より好適であった。ただし、使用する植物体の成育状態が重要で、成功は大変狭い範囲にあった。

それでは葉を構成する細胞全てが培養できるかどうかであるが、当初から柵状、海綿状細胞の培養はできていた。また、表皮細胞の培養も可能であったが、気孔の孔辺細胞はできないのではないかと考えていた。その後、相次いで成功例が報告されているので、葉の全ての細胞は培養できるということになる。その上で改めて、上記クリコリアンらの論説が誤りであると述べたい。

従って、冒頭に述べたハーバラントの夢見たことは荒唐無稽ではなく、むしろ正当とよぶべきであった。これにより、ハーバラントが細胞培養の祖であるという意見を改めて支持したいのである。しかしながら、他の組織器官ではこのようなシステムテックな探求がなされていることを知らないのが即断はできないが、植物体を構成する体細胞のほとんどが培養可能であろうと考える。即ち、至適条件を見出せば、植物体のほとんどの体細胞には分化の全能性があるといえよう。

ただし、これまで述べたことは双子葉植物での実験に関わるもので、単子葉植物では幾分様相が異なる。特に、イネ科植物の場合顕著であり、イネ科植物の葉からのプロトプラスト調製も困難であり、筆者ら(Nagata and Ishii 1979)の経験でもイネの葉身からはまったくプロトプラストが調製できなかったが、葉鞘からは得られた。そして、イネの場合、胚細胞培養から培養細胞系を得て、そこから得た細胞からのプロトプラスト調製と植物体再生が達成されている(Shimamoto et al. 2002)。従って、現時点ではイネ科植物の葉肉細胞の場合にはまだ実験的検討が不十分であるか、培養が困難であるかの判断は筆者にはできない。

葉肉細胞の培養

葉肉細胞が培養できないのではなく、むしろ培養の素材としては好適であると指摘してきたので、ここで培養初期の細胞の変化を追跡してみたい。タバコ葉肉細胞プロトプラストは細胞分裂の変化とそれに先行するDNA合成を追跡すると、図-4に示されるように最初の細胞分裂は24時間目には検出でき、それに先行するDNA合成は12時間目には検出される。興味深いことに、その折のオーキシシンとサイトカイニンの役割に関して、サイトカイニン単独ではDNA合成が見られるが、オーキシシンでは見られないことである。ただし、サイトカイニンで誘導されたDNA合成は継続しないが、このデータから判断すると、サイトカイニンにより細胞周期のG₀-G₁-S期の転換が起こり、オーキシシンはその継続に働くと理解される(Nagata 2010)。これはまた、分化した細胞の脱分化過程を示すことであり、サイトカイニンがその役割を担うと理解される。その背景となる遺伝子発現の変化はこれまで解析されておらず、この追及の意義はあると考えているが、それはこれまでに達成されていない。なお、最近シロイヌナズナの葉肉細胞プロトプラストの培養初期の遺伝子解析がなされており、その内容は興味あるものであるが、上記の現象とは異なっていると思われる(Sakamoto et al. 2022)。

細胞組織培養の展開

細胞組織培養の基本は完成しており、もう新たに付け加える点はないと一般的には思われているかもしれないが、決してそうではない局面もあることを指摘した。今後なぜ植物細胞の培養が種を越えて一様にかないかは解決すべき課題であり、特に単子葉植物体細胞を自由に培養できる条件を見出すことは重要な課題である。そのような結果をもたらすよう

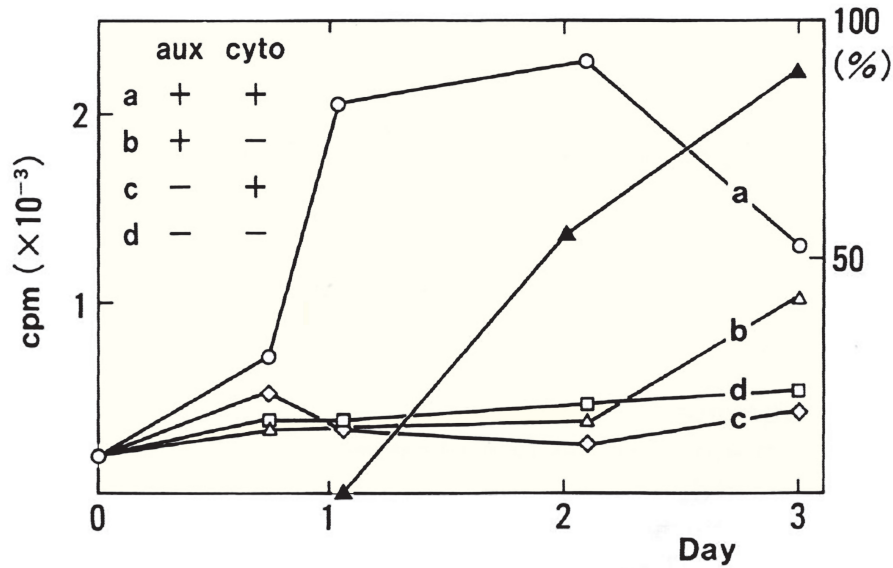


図-4 タバコ葉肉プロトプラストの培養初期の分裂率と DNA 合成
 培養後の DNA 合成はトリチウムチミジンの取り込みで評価した。○-○ a: オーキシンと
 サイトカイニン添加, b: オーキシン添加, c: サイトカイニン添加, d: 無添加 ▲-▲ 細胞
 分裂率

な分子機構があるか、もしそのような変化をもたらす因子があれば、それらの機構の解明によって細胞組織培養は飛躍的に進展することになる。それらの因子が上記サイトカイニンにより細胞周期の G_0 - G_1 -S 期の転換をもたらす分子種に関連していることは荒唐無稽とは言えないであろう。それらの機構が明らかになれば、植物種に広範に分化した体細胞の細胞分裂誘導も可能となるであろうと思うのである。このように植物体細胞の培養はなお未調査の課題があることを知っていただけたらと思います、本稿をしたためた。

文献

- Harberlandt, G. 1902. Sitz. Ber. Mat. Nat. Kl. Kais. Akad. Wiss. 111, 69-92.
 Krikorian, A.D. and Berquem, B.L. 1966. Bot. Review 35, 59-67.
 Nagata, T. and Ishii, S. 1979. Can. J. Bot. 57, 1820-1823.
 Nagata, T. and Takebe, I. 1971. Planta 99, 12-20.
 Nagata, T. 2010. Prog. Botany 71, 6-19.
 Sakamoto, Y. et al. 2022. Plant Cell 34, 4348-4365.
 Shimamoto, K. et al. 2002. Ann. Rev. Plant Biol. 53, 399-419.
 Skoog, F. and Miller, C.O. 1957. Soc. Exp. Biol. Symp. 11, 118-131.
 Steward, F.C. et al. 1958. Am. J. Bot. 45, 705-708.