

「植調」には、これまで連続エッセイとして「植物の不思議を訪ねる旅」を寄稿してきましたが、2018年に私が公益社団法人日本植物学会より大賞をいただいたことを知った編集部より、それらの内容紹介の記事を書いたらどうかというお申し出をいただきました。それで、お言葉に甘えて大賞の内容に沿った稿を紹介させていただきます。内容は、今回の表題のとおり「植物の分化の全能性」と次回の表題「モデル植物細胞系」の2つの話題です。

植物の分化の全能性

植物の分化の全能性は、iPS細胞の出現により動物細胞でも全能性が論じられるようになってきている今日でも、植物の特性的な性質であることには異論がないかと思いますが、私の研究はその基本概念の樹立に関するものです。そもそも、植物体を構成する体細胞を培養しようとするアイデアは1902年のハーバーランド (Gottlieb Haberlandt) の論文に遡り、それが実現するまでには多くの条件が達成される必要がありました。とりわけ、葉の細胞の培養に関する限り、1963年の時点でも否定的で、細胞組織培養の先駆者であるホワイト (Philip R. White) の著名なモノグラフでもそのように書かれていました (White 1963)。

私は大学院へ入って研究として志したのは、当時単離法が提出されたばかりのタバコ葉肉プロトプラストの培養でした。その動機は、細胞壁をもたないプロトプラストでは植物ホルモンの効果を直接的に見ることができるであろうという期待からでした。しかしながら、取りかかってみると、その時点では培養法が全く確立されていませんでしたので、まずは培養に取りかかり、その目途をつける必要があるということで研究を開始しました。それは大学院に入ったばかりの学生にとっては難問であったかもしれませんが、当時余気にもならず挑戦しました。挑戦とは若者の特権であると、今にして思われる感慨です。当初は基本的な技術の一つずつ解決する必要があり、例えばプロトプラスト調製には酵素の使用が不可欠でしたが、その無菌化すら自ら解決する必要があり

ましたが、その他多くの乗り越える課題もありました。そして、しばらくの助走期間の後に、1969年の11月2日～5日の実験で、初めて葉肉プロトプラストの再現性ある培養法確立の手がかりが得られましたが、50年前のことです。要は実験材料とする植物体をいかに良く育てるかという基本的なことでしたが、それまで誰もそれを達成できていなかったのです。その途次に、なかなかうまくいかない先輩諸氏に相談すると、即座に「それは無理だよ」と異口同音で言われましたが、今や懐かしい思い出です。

タバコ葉肉プロトプラストの培養

その概要を示しますと、タバコ葉肉プロトプラスト (図-1) をオーキシンとサイトカイニンを加えた適当な培地に置くと、高率の細胞分裂の誘導 (図-2) を見ることができました。特に、寒天培地に埋め込むと高頻度のコロニー形成を達成することができ、あたかも微生物のように取り扱うことができました (図-3)。全てのコロニーは、再分化培地へ移すと茎葉分化が達成され、全て個体再生が可能でした (図-4,5,6)。

ところで、植物細胞の分化全能性は1960

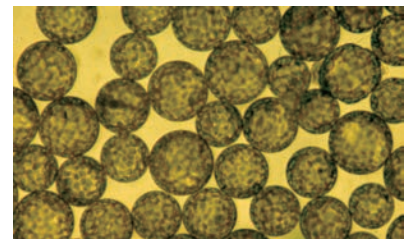


図-1 タバコ葉肉プロトプラスト

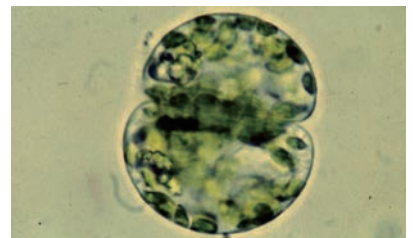


図-2 タバコ葉肉プロトプラストで観察された細胞分裂

タバコ葉肉プロトプラストは培養に移すと細胞壁を再生し、細胞分裂を開始する。

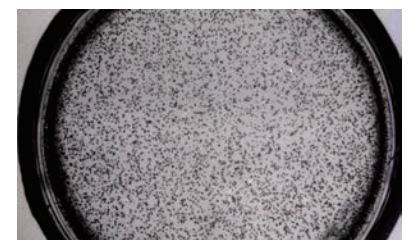


図-3 タバコ葉肉プロトプラストのコロニー形成

タバコ葉肉プロトプラストを寒天培地に埋め込むと、高頻度でコロニーを形成する。

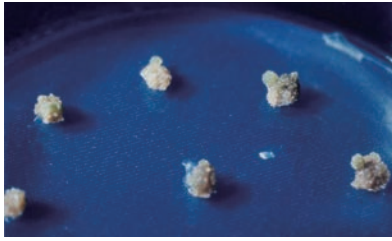


図-4 プロトプラスト由来コロニーよりの器官形成

図-3 で得られたコロニーを器官形成培地に移すと器官を形成する。この場合茎葉分化。

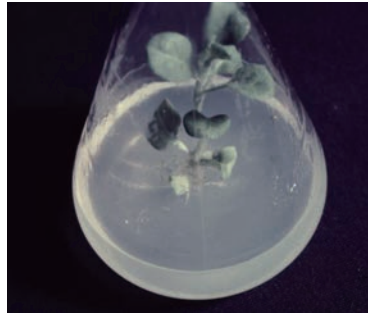


図-5 幼植物体の形成



図-6 プロトプラストより再生させたタバコ

年前後にスチュワード (F.C. Steward) 他により発表されていましたが、基本的な設問である一体組織を構成する細胞が、どの程度の頻度で分裂するかという問いに対してはほとんど情報がありませんでした。スチュワードらのニンジン根の培養報告では、分裂するのはたかだか5~8%であるとされていますので、残りの92~95%の細胞は分裂しないのかという疑問があります。しかし、私の葉肉プロトプラストの研究で明らかになったことは、葉のほとんど全ての細胞が分裂し、そのそれぞれから植物体が再生できるということで、分化の全能性は組織を構成するほとんど全ての細胞にあることを示したことでした。葉には、柵状細胞、海綿状細胞、表皮細胞がありますが、それらが分裂するということです。なお、後に、オランダのグループが孔辺細胞でも分裂するということを観察していますので、葉の全てといえるかと思いません。私どもの論文は、1970年と1971年に発表されましたが (Nagata & Takebe 1970, 1971), この「全ての細胞に分化全能性がある」という重要な論点はそこへ盛り込むことができませんでした。それから14~18年ほどして、それらの論文が Citation Classics に選定された時点では、エッセイも付けられるということで、そこにこの論点を含めることができました。これらの論文は、幸いなことに現在でもいわずば古典として引用され続けています。その上に、細胞融合や形質転換が加わり植物の体細胞工学へと発展して、一研究領域を形成し、植物バイオテクノロジーの重要なコアとなっていきました。

ただし、なお未解明の点もあり、その後の分子生物学手法の発展により、解決できる可能性が高くなっている点もありますので、それらの内の2点を以下に記します。

脱分化の機構

葉肉プロトプラストを用いて、新たに解決可能性が生じた課題とは、脱分化の初期過程の機構解明です。タバコ葉肉プロトプラストはオーキシンとサイトカイニンの存在下で細胞分裂が誘導され、培養開始後72時間以内にG₀-G₁-S-M期の

進行が観察されています。今日細胞周期の進行に関わる遺伝子の発現機作は、次回紹介するタバコBY-2細胞のところでも述べるように詳細に明らかになってはいますが、G₀-G₁期への転換、即ち分化して細胞分裂を停止した細胞が、新たに分裂を再開することである脱分化については未だ明らかになっていません。この点、葉肉プロトプラストの培養系は均質細胞の集団であり、また進行が同調的であり、DNA合成は15時間目に観測され、細胞分裂は30時間までには観測されています。この過程を最近の分子生物学的解析手法を適用して解析すれば、その過程に関わる遺伝子群を網羅的に把握でき、機構解明が可能であると予想されますが、これはまだ達成されていません。

オーキシンとサイトカイニンの役割

葉肉プロトプラストの培養にはオーキシンとサイトカイニンが必須ですが、その役割については実は未だ明らかになっていない点があります。従来オーキシンが主役でサイトカイニンは補助的であると考えられてきましたが、最近の私自身の調査によると、サイトカイニン単独である程度細胞周期の進行が起こり、部分的にDNA合成が開始し、その後の周期の完結と更なる進行にオーキシンが必要とされるというデータが得られています。これらの興味ある点の解明が今後に持ち越されています。

この様に、タバコ葉肉プロトプラストの培養系は、なお、研究対象として魅力的な素材ですが、問題点はプロトプラストの調製と培養法の基本が複雑で、それを習得した人がほとんどいないことで、その点が私にとって最も悩ましい点です。

文献

- Nagata, T. and I. Takebe 1970. *Planta* 92, 201-208.
 Nagata, T. and I. Takebe 1971. *Planta* 99, 12-20.
 White, P.R. 1963. *The cultivation of animal and plant cells.* Ronald Press.