

植物組織培養のあゆみ(4)

猪口雅彦*・原田 宏*

(1986年8月20日受理)

植物組織培養が、植物の組織を“無分化”状態(カルス)に維持する技術として確立され、そのための培地組成の改良がなされてきたいきさつは前回までに述べた。その結果、現在も基本的な培地として用いられているいくつかの培地組成が確立され、多くの植物種でかなり一般的に“組織培養”を行えるようになった。しかし Haberlandt は、単に植物組織(・細胞)からカルスを誘導して“無分化”状態に維持しようと試みたわけではない。彼は細胞を生命の基本単位と捉え、個々の細胞は個体を再生し得る“分化全能性(totipotency)”を持っていると洞察した。実際、彼が試みたのは単細胞の培養であったことは、この連載の最初に述べたとおりである。この分化全能性の証明がなされてはじめて、“完全な”植物細胞・組織培養系の確立と言える。前回述べた1940~1960年代の培地組成の改良・研究と植物ホルモンの知見は、一方でカルス培養の技術を一般化し、他方では分化全能性の証明を導いた。そこで今回は、分化全能性の証明への道筋を中心に述べて行こうと思う。

Gautheret, White, Nobecourt の3人による組織培養の完成の年、1939年、White は自ら確立したタバコ雑種(*N. glauca* × *N. langsdorffii*)の組織培養系を用いて、培養組織からの器官分化を観察した。彼の培養組織は寒天培地上でカルスとして継代されていたが、これを液体培地中に移すとカルス上に芽が形成された。すなわち、カルスからの不定芽分化が初めて観察された。このカルス組織には髄細胞(pith cell)と階紋細胞(scalariform cell)の2種類の細胞しか含まれていないにもかかわらず、葉肉細胞、表皮細胞、孔辺細胞、腺毛細胞など多種多様な細胞からなる不定芽が分化したということは、このカルス組織の細胞が分化全能性を持つことを強く示唆してい

る。しかし、この時にはついに根は分化せず、完全な植物体の再生はできなかった。

1944年、この White の系に興味を持った F. Skoog は、White から譲り受けた培養組織を用いて不定器官分化を引き起こす物質の検索にかかった。このとき、植物生理活性物質としてすでに知られていたオーキシン類は、不定芽分化を抑制した。また、1948年に Skoog と Tsui は、アデノシンやアデニンがこの培養組織系の不定芽形成を促進し、またタバコ(*N. tabacum* cv. Wisconsin #38)の節間切片の培養においてはオーキシン(NAA)が不定根形成を促進しアデニンが不定芽形成を促進することを見出している。この後 Skoog らが、当時細胞分裂との関係が知られていた核酸に注目し、1955年にカイネチンを発見したことは前回述べた。このカイネチンをアデニンの代わりに用いて同様に不定器官形成を調べた結果、1957年、Skoog と Miller は不定芽と不定根の分化は培地に添加したオーキシンとカイネチンの量比により制御されることを示すに至った。すなわち彼らは、オーキシン類は不定根の、カイネチンのようなサイトカイニン類は不定芽の形成を促進し、両者の適当な濃度の共存によってはカルス増殖を促進するという仮説を立てた。ジベレリン、アブシジン酸など他の植物ホルモンや、その他諸々の要因が形態形成に影響を及ぼすので、この仮説がすべての植物種で成り立つわけでは、もちろん、ない。しかし、器官分化の制御要因として植物ホルモンのバランスという物質的な裏付けを与えた端緒であり、その後多くの形態形成の研究が植物ホルモンとの関係において進められることとなった。

一方、Steward らはより明確に分化全能性の実証を目指して、主にニンジンを用いて小細胞塊の懸濁培養法を開発していた。そして1958年に彼らは、培養中に不定根が自然に分化し、それを寒天培地上に移すことで不定芽が誘導されて小植物体となり、ついに完全な成体として開花に至ることを観察した。ここに完全な個体再分化が初めて達成された。しかし、この植物体の起源はわずか

* Masahiko INOBUCHI and Hiroshi HARADA :
Historical Step in Plant Tissue Cultures (4)
筑波大学生物科学系(〒305 茨城県新治郡桜村天万台1-1-1)
Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba
(Sakura-mura, Niihari-gun, Ibaraki-ken, 305)

数細胞からなる小細胞塊ではあるが、単細胞由来であるとはいきれなかった。ところで、同年中にこの系の植物体再生がより詳細に観察され、培養細胞が受精卵からの胚発生に類似した過程を経て完全な植物体にまで生長することがわかり、このような現象は不定胚形成と呼ばれるようになった。不定胚形成は、Reinert によってもほぼ同時に観察されている。

完全な植物個体が培養細胞から再生されたことにより、植物細胞の分化全能性はほぼ実証されたことになる。しかし、Haberlandt の試みた、完全に一個の細胞からの植物体再分化のためには、(単)細胞培養の技術が必要となる。そのみならず、培養条件の検討が進むにつれて培養される細胞・組織の性質が問題にされ始め、遺伝的に均質な細胞群を得るためにも単細胞由来の培養が研究された。1954年に Muir らによって初めて、アフリカン・マリーゴールド (*Tagetes erecta*) とタバコの単細胞を他のカルス(同種のものや、ヒマワリのもの)の上に載せた濾紙上で培養することに成功した。この後、同様の手法として旺盛に生長している細胞・組織と何らかの形で間接的に接触させて培養する方法(nurse culture method)や、水滴中で培養する方法(hanging drop method)など、単離細胞の培養技術が開発・確立された。そして、1965年に至り、Vasil と Hildebrandt によってようやく完全に単細胞由来の植物体が、タバコ雑種(*N. glutinosa* × *N. tabacum*)で再生

された。彼らは、単離細胞を扶助する他の細胞や組織を用いず、また、培地にココナット・ミルクのような生体由来の栄養物も加えないで、全く単離細胞の持つ“能力”だけで植物体の再分化まで導いた。こうして、1902年の Haberlandt の洞察以来60余年にして完全な分化全能性が実証され、彼が問題として提起した植物細胞・組織培養は取りあえず解決を見たことになる。

1902年にひとつの始まりを持って研究が進んできた植物細胞・組織培養は、1934年に器官培養が、1939年に組織培養が、そして1954年に細胞培養が確立して、その培養技術としての進歩は1962年の Murashige と Skoog の培地の完成で一つの節目を迎え、その科学的問題としては1965年の分化全能性の証明で一応の解決をみた。いずれにしても、1960年代半ばをもって植物細胞・組織培養の基礎研究は概ね終了した。培養の技術としては、上述の器官・組織・細胞の3種類に大別できるが、1960年代以降はそれぞれの分野が急速に進歩・専門化してゆき、このような総論的文章で扱うことはかなり困難である。各々の詳細な解説は他の成書を参考にされたい。しかしそれらには、蕈・花粉培養、胚・胚珠・子房培養、茎頂培養、プロトプラスト培養等々現在応用的にも重要なものが多いので、特に重要と思われるか、筆者が興味のある分野の歴史については、追って各論として述べたい。

(終)