

毛状根の培養と再分化に関する工学的研究 (名古屋大学生物分子応答研究センター) 魚住信之

毛状根とは植物ホルモンの添加を必要としないで増殖し、葉も茎もない根のみの遺伝子組み換え植物である。一見するとこの世のものと思えない不思議な植物組織である。植物細胞の培養といえば植物ホルモン添加で誘導される未分化細胞（カルス）が一般的である。カルスと比較した場合、分化した毛状根は根特異的な目的産物の回収に有利であり、物理的強度、取り扱い易さ、遺伝的安定性の点でも特徴を持つ。本研究は毛状根培養の確立と毛状根の新規利用法の開発を目的としたものである。

毛状根の流加培養を用いた増殖方法の確立

植物細胞は合成培地でも増殖して増殖阻害物質を培養液中に分泌しない。このため毛状根の培養は動物細胞より細菌の培養に似ている。この理由から高密度培養を達成するために流加培養方法を用いた。我々が工夫した点は従来植物細胞培養に用いる糖源をスクロース（二糖類）のかわりにグルコースなどの単糖にしたことと、金属分量は細胞収率から求めた修正MS培地を流加したことである。この結果、ニンジン毛状根、アジュガ毛状根ともに約30g乾重/Lにまでタービン内蔵型リアクターを用いて増殖させることができた。この結果から毛状根の増殖パラメーターの細胞収率、維持エネルギーを簡単な式を誘導して毛状根では初めて正確に求めた。 $-dS/dt = mX + (dx/dt)Y_G$ （ m : 維持エネルギー係数 Y_G : 細胞収率 X : 細胞量 S : 糖量 t : 時間）

シミュレーションを用いた培養環境制御と代謝産物の生産

植物の増殖と代謝産物の生産は同時に起こることはあまりない。培養においてははじめに増殖させて、次に増殖をとめてやれば自然に代謝産物生産期に誘導できる（2段階培養）。我々は増殖の停止に細胞内リン酸濃度を低く保つことによって目的とする代謝産物が細胞内に蓄積されることを見つけた。しかし、現実には培養中には細胞内リン酸濃度を測定することは困難である。そこで毛状根の増殖パターン、リン酸濃度と二次代謝生産物の蓄積のデータからkinetic modelを構築した。構築したモデル式と細胞量の実測値（電気伝導度）から、シミュレーションにて細胞内のリン酸濃度（含有量）を推定して細胞内のリン酸濃度を制御することで目的代謝産物の昆虫脱皮ホルモンを効率よく多量に蓄積させた。

再分化植物の効率的生産法の構築

研究開始時には基礎、応用を含めた再分化に関する研究の中心はカルスの再分化で、毛状根の再分化については基礎科学的知識と現象のみが報告されているに過ぎなかった。毛状根はカルスと比較して長期間に渡って再分化能力が維持される点や再分化率の面で優れている場合があることを本研究で見い出すことができた。（我々の経験では毛状根の再分化能力は6年以上安定であったが、カルス由来の不定胚形成はせいぜい1年から2年が限度であった。）毛状根はひと続きの根であるため、種苗として用いるには断片化操作が必須となる。根の断片、不定芽原基または不定芽を種苗として用いるのが相応しいと考え、断片化を行う時期を決定した。3種類の組織体を効率よく獲得するために各々の培養条件と小植物体形成効率の促進を検討した。

機械的に大量の毛状根を断片化する方法を試み、省力化、機械化への方策を提案した。同時に、二次代謝産物の含有量が元の植物より増大した毛状根やレポーター遺伝子を導入した毛状根を作成して、毛状根から再分化植物を生産することの有効性を示した。本種苗生産プロセスの研究は毛状根の新しい利用法の開拓に寄与したと考えている。

Bioengineering studies on hairy root cultures and their regeneration

Nobuyuki Uozumi (Nagoya Univ. Bioscience Center)