

植物組織培養のあゆみ(3)

猪口雅彦*・原田 宏*

(1985年12月3日 受理)

前回までに述べたように, 19世紀末から20世紀初頭にかけて Haberlandt によって試みられた植物細胞・組織培養は, 1934年の White による器官培養の成功を経て, 1939年までに達成された。器官培養の成功までの約30年間は模索の時代であり, 各研究者の独断によって培養条件の探究が続けられた。1935年以後の30年代は, White の器官培養をひとつの基準として培地の改良, 特に酵母抽出物中の有効成分の研究が進められ, 組織培養の成功もその結果として得られたともいえる。また, 植物生長調節物質のひとつオーキシン(特にインドール酢酸)は, 植物の屈曲反応の解析からすでに知られており, その培地への添加は組織培養の成功に貢献した。ともかく1940年を迎えた時点で, 器官培養・組織培養ともに達成されており, 一応の基本となる培地が存在した。しかし, この時点で培地はいまだ完成の域には達しておらず, 限られた植物種あるいは組織にしか適用できなかったもので, より広い範囲の植物種に汎用するために培地成分の改良は続けられた。また, 1940年代に入ると, その時点で完成していた組織培養系を用いながら組織分化の研究も行なわれ始め, 培地成分の研究結果および植物生長調節物質の知見がここに反映された。

培地成分の研究では, 30年代の酵母抽出物中の有効成分の研究に代わって, ココナットミルクの有効性の研究が始まった。この連載の初めにも述べたとおり, Haberlandt が組織培養を試みた背景には, その頃, 動物の生殖細胞を用いた発生学上の研究があり, 1902年当時すでに, 彼は生殖組織抽出物の培地への添加の有効性を予言していた。その後動物組織培養で, 体液や, 胚に含まれる物質を培地として培養して好結果が得られ, Haberlandt の考えはまず動物で実現された。ココナットミル

クの培地への添加はこのような背景のもとに考え出されたと思われ, 1941年に Van Overbeek, Conklin と Blakeslee は *Datura* の胚培養においてココナットミルクがよい培地となることを示した。1948年になって, Caplin と Steward は胚培養での好結果を基に, ニンジンの組織培養にココナットミルクを用い, オーキシンだけを培地に加えたときよりも細胞増殖, 特に細胞の分裂に効果の高いことを報告した。

一方, Skoog らはタバコの茎切片を培養する際に, オーキシンを加えただけでは初期生長としての細胞の伸展と重量の増加が起こるだけで, 細胞分裂が起こらず, それ以上の増殖は続かないことを観察していた。彼らは, 細胞の分裂・増殖を促進する因子を検索し, 酵母抽出物やココナットミルクといった生体物質が有効であることを見出した。ことに酵母抽出物は, 前回述べた組織培養のための栄養成分だけでなく, 細胞増殖因子の研究にも用いられ, 1955年ごろまでには生理活性を持った物質はデオキシリボ核酸(DNA)に由来することが明らかとなった。この未知の生理活性物質は“カイネチン(kinetin)”と名付けられ, その実体が追求された。はじめ, タバコの茎由来の培養組織を, にしん精子 DNA 標品を培地に加えて培養したところ生理活性が認められ, タバコ組織は対照に対して生重量には差がなかったものの細胞数が著しく増大していた。たまたまそのとき用いた DNA 標品が古いものであったために, 新しい標品を用いて実験をやり直したところ生理活性が認められず, さらに, 新しい標品を加水分解した上で加えると再び著しい増殖促進が観察された。これより, DNA 変性の結果生理活性物質が形成されと考えられ, DNA 加水分解物中にカイネチンが求められ, 分析された。その結果, 1955年にカイネチンが単離され, さらに構造が決定された。

カイネチンは動物の DNA 標品から単離された物質であったので, 植物が本来持っている物質であるかどうかは不明であった。そこで, ココナットミルクに見られる

* Masahiko INOBUCHI and Hiroshi HARADA: Historical Step in Plant Tissue Cultures (3)

筑波大学生物科学系(〒305 茨城県新治郡桜村天王台1-1-1)

Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba (Sakura-mura, Niihari-gun, Ibaraki-ken, 305)

ように植物体が本来持つ同様の生理活性を示す物質が、最初はカイニン (kinin)、後にはサイトカイニン (cytokinin) と総称されて、検索され始めた。まず1960年に、Skoog とともにカイネチンを発見した Miller が、トウモロコシ (*Zea mays*) の胚乳にカイネチン類似の生理活性物質を見出し、1963年に Letham によって確認されてゼアチン (zeatin) と名付けられた。しかし、ココナットミルクに含まれるサイトカイニンは—ココナットミルク自体は強いサイトカイニン活性を持っているにもかかわらず—1970年代に入るまで同定されなかった。1974年になって、Letham はココナットミルクに含まれるサイトカイニンを単離・同定し、それがリボシルゼアチン (ribosylzeatin) であると報告し、1975年には Van Staden と S.E. Drewes によってそれがゼアチンとともに存在することが確認され、ここに34年の歳月をかけてココナットミルク中の生長促進物質が同定された。

植物生長調節物質としてのサイトカイニンの研究が進められた一方で、それに並行して培地の基本組成の改良も進んでいた。ココナットミルク中の有効成分の研究はその過程で、前述のサイトカイニンの発見のみならず、現在広く培地に添加されているミオイノシトール (myo-inositol) など数種の新たな有機有効成分の発見を導いたが、無機成分の再検討とその最適化も精力的に行われていった。培地改良の基本となったのは、最初の組織培養に使われた White の培地と Gautheret の培地である。1940年代から1950年代にかけて Hildebrandt et al., Nickell et al., Heller, そして Nitsch & Nitsch など多くの研究者によって、これらの培地の各無機要素をそれぞれ独立に増減して培養を試みることをおもな手段としてそれぞれの最適濃度が求められ、培地全体の最適化が行われていった。そして1962年に、Murashige と Skoog によってタバコの一品種 (*Nicotiana tabacum* cv. Wisconsin 38) 用に最適化された培地として発表されたものが、現在最も頻繁に使用されている培地組成の基本となった。

Murashige と Skoog はタバコ組織と White の基本培地を用いて、植物組織抽出物に含まれる培養組織の生長を促進するような有機物質を検索していて、タバコ葉組織の水抽出物を培地に添加すると3～4週間後の生重量が4～5倍も増えることを見出したが、さらに研究を進めた結果、その効果はほとんどが抽出物中の無機成分によるものであるらしいことがわかった。そこで彼らは、この現象ははまだ培地の無機成分が十分に最適化されてい

ない結果ととらえ、生理活性をもった有機成分の検索を行う際に共存する無機成分の影響を最小にするために、培地の無機成分の最適化を行った。その特徴は、おもに窒素 (N) とカリウム (K) の増加であり、特に窒素は White の培地にくらべ実に20倍近く、またその当時最も新しくよく改善されていた Nitsch & Nitsch の培地とくらべても3倍近い増量であった。微量要素も全体に増量されており、有機成分ではさきに述べたミオイノシトールが新しく加えられ、シロ糖濃度も高められている。

この Murashige と Skoog の培地 (MS 培地) は、現在まで一般的な植物組織培養共通の基本培地として多くの植物材料に対してそのままで使用され、時に多少の改変を加えて使われている。しかし、前にも述べたように、個々の植物組織の養分要求性は非常に多様であり、すべての植物材料に共通に最適な培地を作ることは不可能であり、かつ、その様な試みは無意味である。そういった意味で、White 以来約20年間、Haberlandt の論文からするとちょうど60年間続けられてきた培地組成の研究は、ここに一応終結したといえる。しかし、当然個々の植物材料に最適な培地組成は、それぞれの研究者たちによって常に研究されてきているし、また、特殊な培養法にはそれにあった培地が必要とされる。その意味では、培地組成の改良は無限に続く問題ともいえる。

これまでに述べて来たように、組織培養の歴史はその初期においては培地の改良研究そのものが組織培養の研究であったともいえる。その培地の改良研究は1902年の Haberlandt 以来1962年の MS 培地の完成までの60年間の時代を築き一応終了した。その60年の内にはひとつの大きな転換点としての White, Nobecourt, Gautheret による組織培養の成功があり、かつ、そのときからすでに新たな時代が始まっていた。今回述べた約20年間には、培地研究が主役だった時代の終焉と、“完全な”組織培養系の確立、すなわち培養組織から器官分化を経て植物体再生に到る分化全能性 (totipotency) の証明への時代の始まりとが共存していた。そして、そのふたつの時代をつなぐ重要な鍵は、前者の時代の研究から得られた植物生長調節物質、いわゆる植物ホルモンである。オーキシン、サイトカイニンといった植物ホルモンの知見なくして培養組織からの器官分化や個体再生、広くは植物の形態形成の研究は進み得なかった。その物質的裏付けはまさにこの時代になされたのである。次回は、その新しい時代の始まった点から、もう一度1940年代に戻って考えてみたいと思う。

(以下次号へ続く)