

植物組織培養のあゆみ (1)

猪口雅彦・原田 宏*

(1985年1月14日受理)

植物の細胞・組織・器官培養は、近年急速に進歩し普及し始めた比較的新しい技術であり、またそれ自体研究の対象でもある。そして、その急速な進歩と普及は年ごとに内容の細分化・専門化を招きつつある。非常な速さで高度化されてゆくこの分野の技術をただ限られた範囲だけで、しかも個々別々に使用するのには、研究を進展させてゆくために非能率的であり、またその進歩も遅れてしまうであろう。そこでまず植物組織培養の創られてきた道を迎えてみることは、現在の状況に至った必然を振り返り、いま何がわかっていて、いまだ何が解明されていないのか、ひいては次になされるべきことは何かを知ることにつながり、また今後出てくる諸問題に対する既知の技術の活用方法の発見にもつながる。

さて、植物組織培養の歴史には、まずその紀元的存在としての G.Haberlandt の業績があり、その前後をごくおおまかに4つの時代に分けることができよう。すなわち、Haberlandt 以前のいわば準備期、その後 R.Gautheret, P.White, P.Nobecourt の3人を中心に実質的な組織培養が確立されるまでの第1期、それに続く培地成分の検討期(第2期)、そして各種の培養方法が確立され、それぞれに発展して現在に至る各論の時代(第3期)である。今回は、このうち Haberlandt 以前の時代の流れと、Haberlandt その人の仕事(なぜ彼が紀元とみなされるか)を述べてみたいと思う。

そもそも今世紀の初頭に至るまで植物学を含む生物学は、もっぱら生物個体をその研究対象としてきた。特に植物生理学は、研究対象の植物に既知の条件を与えて、その示す反応を観察して因果関係を解明するという方法をとっていたが、せいぜい切取った葉や根といった器官のレベルまでしか対象にできず、いわば常に巨大なブラ

ック・ボックスを抱えていたといえよう。1667年に R. Hooke が細胞を発見した時、生物学に細胞という概念が生まれた。しかし、彼が観察したのは原形質を失って死んでいるコルク層の細胞であったので、単に物理的な構造としての発見であった。コルクの例でもわかるとおり、植物細胞は細胞壁を持つので観察が容易であったことから、細胞の概念はまず植物で発展した。1838年に至り M.J. Schleiden が植物について細胞説を発表し、翌39年には T.Schwann がそれを動物にも適用し、全生物について一般化することに成功した。細胞説において、細胞は生命の基本単位であって、それが集まって個体が形成されているが、完全に独立したものでもなく周囲の組織環境によって制御されていると考えられた。この細胞説の考え方が広く普及した19世紀末から20世紀の初頭にかけて、細胞を組織・個体から切り離して人工的に培養すれば、“基本生命体”としての細胞の持つ性質や能力についての洞察が得られ、また多細胞体制である組織個体の中での細胞の相互関係や相補的な影響についての知識が得られるであろうと考え、それを実行したのが Haberlandt であった。

Haberlandt の実験は、論理的、方法的に実際上の最初の植物細胞組織培養の試みとされ、前述のようにしばしば紀元的存在として引き合いに出される。それ以前は“Pre-Haberlandt”時代とでもいうべき時代で、方法的に現代にも通じるような培養の仕事はなされなかった。しかしこの時代に上述の細胞説が出されて—これが彼の仕事を促したのだが—細胞培養の思想的基礎となった。また、植物個体の栄養生理の研究の結果として得られた知見、特に1860年前後に確立された Sachs や Knop の液は完全に人工的に合成された培地として、後に組織培養の培地として応用される基礎となった。事実、Knop 液は Haberlandt が用い、その後もしばしば多くの研究者によって使用され、今でも Nitsch の培地等に改変された形で使われている。さらにこの時代になされた癒傷作用に関する知識も後に役立った。

* Masahiko INOBUCHI and Hiroshi HARADA:
Historical Steps in Plant Tissue Culture
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)

また、プロトプラストは今日多くの研究分野で非常に重要な位置を占めているが、その単離の歴史は意外に古く、細胞培養の試みに先立つ1892年、J. Klercker によって行われているからこの時代のことである。しかし、この時の単離はカミソリを用いた機械的なものであった。プロトプラストは後(1960)に E.C. Cocking によって酵素作用で単離されるようになってから実質的な発展を見ることになる。この事は次号以下に述べる。

以上の様に“Pre-Haberlandt”時代に思想的、技術的基礎が用意され、1902年にいわば出るべくして Haberlandt の実験結果が出たといえる。先に少し述べたように、彼は60年ほど前に出た細胞説の影響を受けて、基本生命体としての個々の細胞の持つ性質や能力を知ろうとしたので、当然めざしたのは細胞培養であった。植物材料としてヒメオドリコソウ (*Lamium purpureum*)、ホテイアオイ (*Eichhornia crassipes*)、オオムラサキツユクサ (*Tradescantia virginiana*)、プルモナリア (*Pulmonaria mollissima*)、イラクサの近縁種 (*Urtica dioica*)、カタクリの近縁種 (*Erythronium dens-canis*)、アカバナ科の一種 (*Fuchsia magellanica* cv. 'Globosa') などの高等植物の他に何種かのシダ植物も用い、培地として水と Knop 液とそれにショ糖などの糖(1~3%)やアスパラギンなどのアミノ酸(1~4%)を加えたものを用いている。これら植物の緑色細胞(海綿状組織細胞など)や腺毛細胞などの非光合成細胞を滅菌した蒸溜水でよく濯いでガラス皿に入れた培地中で、最も長期の場合1カ月程培養している。彼自身は緑色の細胞を明条件下で培養すれば生きながらえると考えたようだが、細胞は適当な培養条件ではその体積を増して生長したが、けっして分裂は起こさず、遅かれ早かれその細胞質を減少させて死滅した。しかし、彼は培養に持ち込んだ細胞が伸長生長することに着目して考察を行っている。すなわち、組織中では個々の細胞はある一定の大きさまで生長すると生長をやめるよう制御されていることは明らかだが、それは細胞が生長する能力をまったく失うからであろうかと。培養に持ち込んだ時に生長が開始されるのは、組織による制御から細胞が免れたためではないか?彼は細胞説のいう生命の基本単位たる細胞を信じていたので、この現象を、細胞自身は常に生長する能力を持っているが、組織

の発達によって受ける制御によって生長が止められていた事を表していると促えた。これは同じ年に Geobel がいったところの分化全能性(totipotency)の考えを Haberlandt が持っていたことの一端を示している。

Haberlandt がこの分化全能性の考えを持つに至ったのは、この時代に動物細胞で行われていた研究が背景としてある。Loeb, Nathansohn, Winkler といった人たちが、ウニの未受精卵からの発生について研究をしており、生殖細胞という特殊な細胞ではあるが、ただ一つの細胞から正常発生を起こし得ることが示された。この事実は、すべての細胞は個体を再生しようという分化全能性の考えに力を与えたに違いない。また、このウニ卵で発生過程を引き起こす刺激は単に浸透圧ショックであったことや同種の雄の精子からの抽出物が卵割を引き起こした事、さらに、Winkler がラン科植物で示した、胚珠組織の発達や子房組織の肥大に花粉管による刺激が効果的であるという知見から、Haberlandt は植物においても同様の浸透圧ショックや生殖組織からの抽出物が効果を示すのではないかと洞察した。これは後に別の研究者によって実行されて、その洞察の正しかったことが示される。

彼はその後、ジャガイモの塊茎やコールラビー(カラタマナ)の球茎を用いて癒傷作用について研究し、傷つけた切口からなんらかの物質が出て、細胞分裂を促進することを観察し、その物質を“癒傷ホルモン(traumatin)”と呼び、切口に形成される不定形の細胞塊を“カルス(callus)”と呼んだ。組織培養とホルモンの関係は次回に述べる。

Haberlandt の試みが、結局は失敗に終わったのは、ひとつには一彼の目的が細胞の全能性の証明であったから一最初から単離細胞の培養に取りかかったことと、次に今になってみると選んだ植物材料が適当でなかったこと、そして最後にいまだ培地組成が不十分であったことなどが指摘されよう。にもかかわらず、彼が多くの場所で組織培養の祖として引合いに出されるのは、彼の注意深い実験態度と論理的な思考から導き出された正しい洞察があったからである。彼が植物細胞を分化全能性を持った最小単位であると洞察したことが、その後の組織培養研究の動因となったといえよう。