



RIKEN ニュース

理化学研究所

遺伝子組換えによる耐病性植物

植物病原菌の生産する毒素の解毒酵素遺伝子を植物に導入・発現させることにより、病気に耐性の植物を創製することに成功

毎日の食卓を飾るコメ、野菜、果物などは、人間の食糧としてより優良な、多収量で食べやすく、しかも高栄養価の方向に育種・改良された植物から生産されている。これらの改良植物は本来の野生種である原種植物と異なり、高品質・多収量である反面、一般に病害虫の攻撃に対しては著しく弱くなる傾向がある。しかも田、畑などの人為的環境下で栽培されるため、いったん病原菌の感染を受けると直ちにその病気が蔓延し、その被害は甚大となる。人類の歴史において、作物の病害は昔からたびたび悲惨な飢饉の原因となっている。

食糧の安定供給と農業の生産性を高めるためには、病害の防除は重要な問題であり、その対策の一つとして、これまで耐病性作物の育成に向けて多くの努力が重ねられてきたが、依然として満足のゆく耐病性品種は少ないのが現状である。従来からの耐病性品種の育成では、野生種などの耐病性を交配により作物に導入する方法がとられてき

たが、この方法では目的にあった遺伝子を作物に導入することが困難であるとともに、導入できる遺伝子の範囲に限界があったものと思われる。

一方、近年著しい発展を遂げている遺伝子工学技術は植物の受精に依存することなく、動植物、微生物などあらゆる生物種からの遺伝形質を植物へ直接に導入できる可能性をもたらした。この技術を応用して、ヨーロッパやアメリカでは早くから除草剤、植物ウイルス病などの抵抗性植物の開発が始められた。最近、微生物制御研究室でもこの技術を用いて殺菌剤プラストサイジンSや除草剤ビアラホスに耐性の植物を作り出すことに成功した。

このような「薬剤耐性植物」を作り出した技術と理論を基礎として、ひき続いて「病気に強い植物」を作り出すことを追究した。植物の病気のなかでも、とくに細菌や菌類(カビ)によって引き起こされる病気の被害は大きく、これら病原菌に耐

性を示す植物を遺伝子工学的にどのような方法でおこなうのかの戦略が大きな課題であった。そこで、植物の病気の中でも病原菌の生産する毒素によって引き起こされる病気に着目し、毒素の解毒酵素遺伝子を植物に導入して病害耐性植物を作る戦略を考えた。とくに植物体の再生が容易であるタバコに感染する病原菌で、毒素によって病気をひきおこすタバコ野火病菌を対象として研究を進めることとした。

タバコ野火病菌はタバコに感染し、葉の感染部位にクロロシスと呼ばれる黄色病斑を形成する。この病斑は次第に拡大し、ついには枯死斑となり、激しい場合にはタバコを枯死させる。病斑の形成はタバコ野火病菌の産生する毒素タバトキシンによって引き起こされる。タバトキシンは図1に示すような構造をした化合物で、その活性本体であるタバトキシニン-β-ラクタムは、アミノ酸合成経路のグルタミン酸からグルタミンの合成に関与するグルタミン合成酵素を強く阻害し、植物細胞を死滅させる。

タバトキシンはタバコ以外の植物、動物、大腸菌などにも毒作用を示すが、生産菌であるタバコ野火病菌に対しては当然のことながら全く作用しない。これは、タバコ野火病菌が自己の産生する毒素に対して特殊な耐性機構を有し、その耐性機構によりタバトキシンが解毒されるため害作用が現れないものと考えられる。このような自己耐性機構は除草剤ピアラホスの生産菌においても

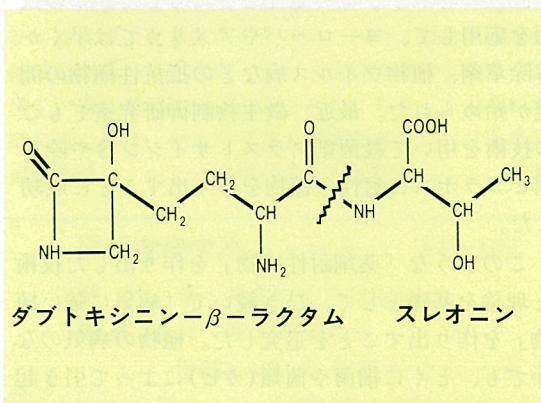


図1 タブトキシンの化学構造式

認められている。ピアラホスの場合には、その合成における中間化合物にもグルタミン合成酵素に対する阻害活性がある。生産菌はそれら活性中間体をアセチル化して、活性のないアセチル化合物としてピアラホス合成を行う。そして最終的に脱アセチルして活性のあるピアラホスとして細胞外に分泌する。この生産菌の有するアセチル化酵素遺伝子を植物へ導入することにより、前述のピアラホス耐性植物が作り出された。

このような考えを基にして、タバコ野火病菌においてもタバトキシンに自己耐性を示す何らかの耐性遺伝子が存在するものと推測し、生産菌自体からタバトキシン耐性遺伝子を単離することを試みた。タバコ野火病菌より染色体DNAを抽出し、制限酵素で切断後、遺伝子の探索を行った結果、幸いにタバトキシンに耐性を示す2種のDNA断片が得られた。これらDNA断片の機能解析により、一つのDNA断片はグルタミン合成酵素遺伝子、他はタバトキシンのアセチル化酵素遺伝子を含むことが明らかになった。筆者らは、後者のタ

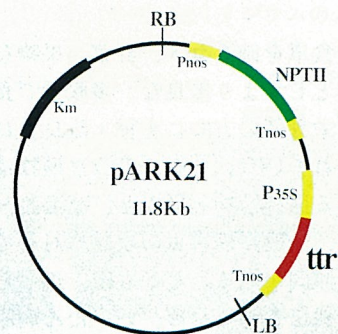


図2 植物ベクターpARK21の構造

ttr：タバトキシンアセチル化酵素遺伝子

NPT II：ネオマイシンフォソトランスフェラーゼ遺伝子（カナマイシン耐性遺伝子）

Pnos：ノパリン合成酵素のプロモーター

P_{35S}：カリフラワーモザイクウイルスの35Sプロモーター

Tnos：ノパリン合成酵素のターミネーター

RB：T-DNAの右側境界配列

LB：T-DNAの左側境界配列

プトキシンを不活化するアセチル化酵素遺伝子に注目し、DNA解析を進めたところ、この遺伝子は531ヌクレオチドDNAから成り、その構成アミノ酸数は177個であることが明らかになった。

このようにして単離されたタブトキシシン不活化酵素遺伝子は、図2に示すように植物のために作られたプラスミッド・ベクターのカリフラワーモザイクウイルスの35Sプロモーター下流に結合し、アグロバクテリウムという細菌に導入した。そし

て図3に示すような方法でアグロバクテリウムをタバコに感染させることにより、タブトキシシン不活化酵素遺伝子を細菌からタバコに伝達した。葉片から分化した幼植物体がタブトキシシン不活化遺伝子を含んでいるかどうかを見るために、形質転換したタバコをタブトキシシンを含む培地に移植したところ、得られた15株中からタブトキシシンで枯死せず、毒素耐性を示す12株が得られた。さらに、この毒素耐性タバコがタバコ野火病に耐性を示す

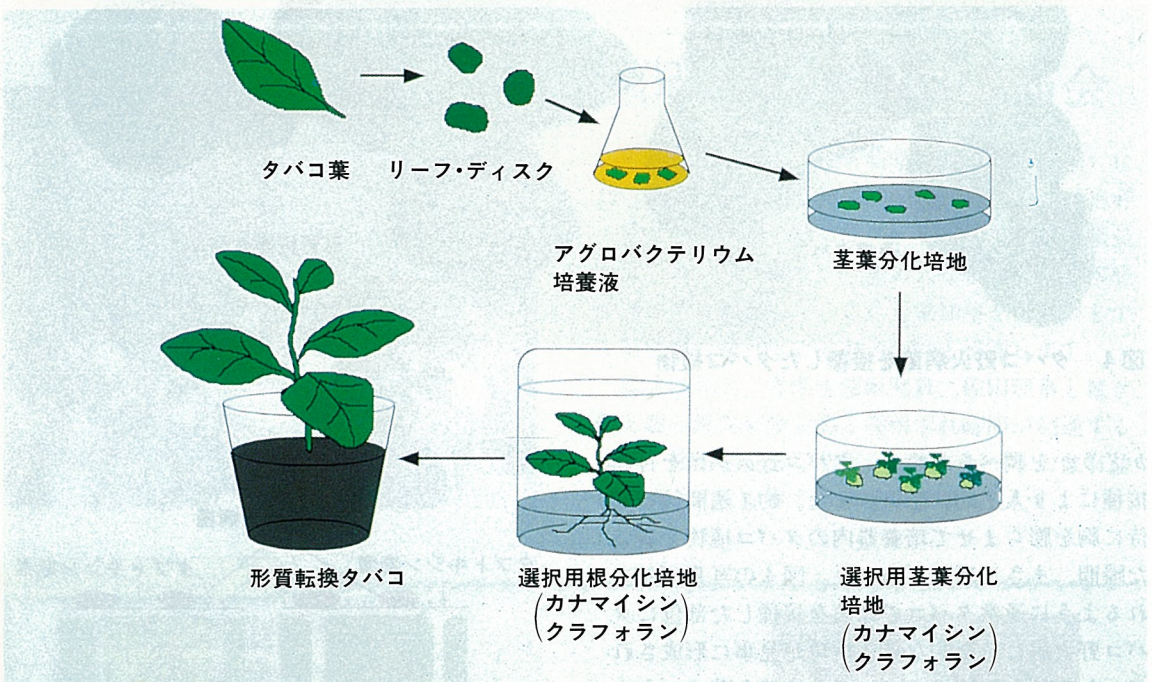


図3 リーフ・ディスク法による形質転換植物体の作出

皇太子殿下理研をご視察

皇太子殿下は、10月5日午後当研究所を訪問され、「リングサイクロトロン」をはじめレーザー研究施設、国際フロンティア研究施設を視察された。

主要な研究成果の説明には熱心に耳を傾けられ、「ヨーグルトは何故体に良いのですか」等の質問をされるなど科学技術に対して深い関心を示された。



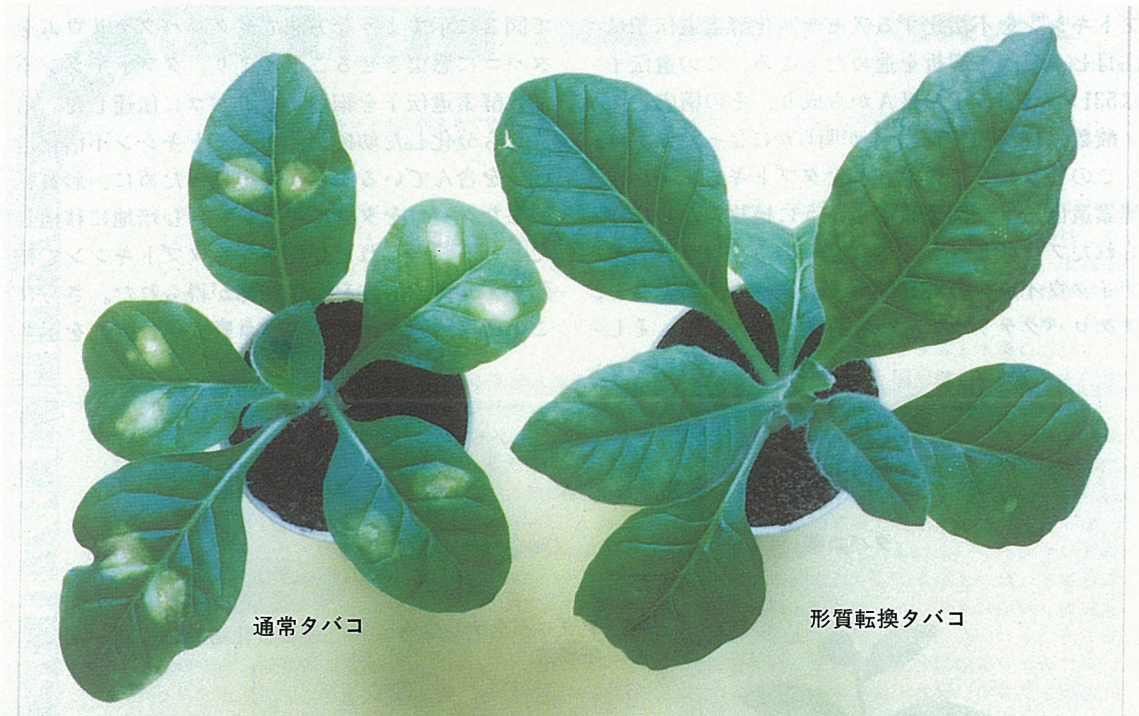


図4 タバコ野火病菌を接種したタバコ植物

かどうかを調べるために、タバコ野火病菌を付傷接種により人工的に感染させた。約1週間後に期待に胸を膨らませて培養器内のタバコ植物を覗いた瞬間、まさに感激であった。図4の写真で見られるように通常タバコでは菌を接種した部位にタバコ野火病に特徴的な黄色病斑が見事に形成されていたが、形質転換タバコの葉は健全葉のごとく緑一色で黄色病斑の形成が全く見られず、明らかにタバコ野火病に耐性を示した。つまり先に予測したように病原菌の分泌する毒素タバトキシシがタバコに新しく付与されたタバトキシシ不活化酵素により無毒化されたため、たとえ植物体内に病原菌が存在しても植物は病原菌の分泌する毒素によって殆ど害されることなく、健康に保たれるのである。(図5)

以上のようにして、遺伝子組換えにより世界で最初の植物病害抵抗性植物を誕生させることができたが、この戦略法は植物病原毒素によって引き起こされる細菌およびカビの病気に広く応用する

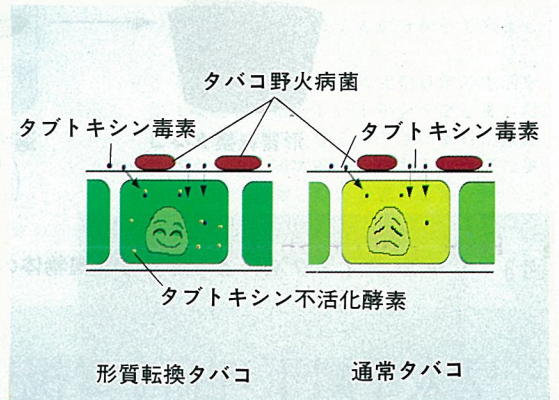
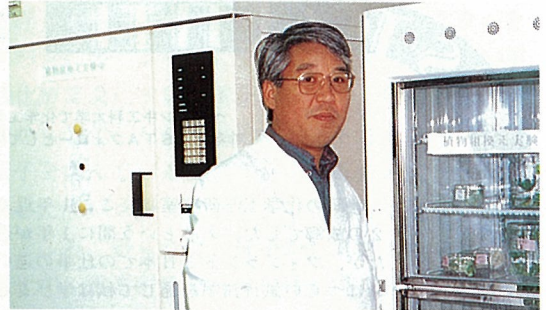


図5 タバコ野火病菌の感染タバコ葉における毒素の解毒機構

ことが可能であり、今後多くの植物病害に適用されることにより植物病害防除の基礎的知見の発展に役立つとともに、病害防除における一つの新たな道を開くものと確信している。

微生物制御研究室
研究員 米山勝美



盛況だった科学講演会

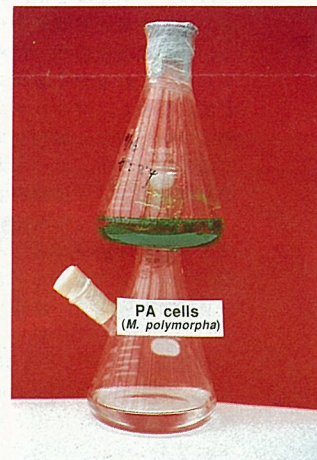
恒例の当研究所主催・科学講演会（第12回）は、10月24日富山県民会館で開催された。当日は絶好の秋日和、白銀に輝く北アルプスのもと、県職員をはじめ教員、学生、企業の人など291人もの多勢が参加する盛況ぶり。これも県知事をはじめとする富山県の強力なご尽力のお陰と感謝します。

講演は井上、青柳主任研究員、佐田理事と続き、最先端の研究が分かり易く説明され時間が超過するほど。帰りに提出して戴いたアンケートには有益なアドバイスも多く、今後の参考にしたい。

スポットニュース

光合成阻害型除草剤に関する研究発表が受賞

第12回アジア太平洋雑草学会 (Asian-Pacific Weed Science Society) 大会は、韓国のソウルで6日間にわたり盛大に開催された。約30の国から750人が3年に一度のイベントに参集した。この大会の運営は韓国の関連学会が総力を挙げて取り組んだだけあって大変素晴らしいものであった。最終日には、真新しい国立伝統芸術劇場で閉会式が挙行政され、今回のポスター発表の中から最も独創性に富み学術性の高い研究成果に与えられる最優秀賞として、薬剤作用研究室（高橋・吉田一瀬）・国際フロンティア（郭）らによる「ゼニゴケの光独立栄養培養細胞を用いた光合成阻害型除草剤の迅速検定法」が選ばれ表彰された。



2段容器の上層にあるゼニゴケの培養細胞は、光合成により下層の緩衝液から放出される炭酸ガスを栄養源として増殖する。

2つの故国、日本とフィンランドで仕事をしたこと

Marjut・Pokkinen

ヘルシンキ工科大学で化学工学修士号取得後、同大オートメーション工学研究室に勤務。
昨年よりSTAフェローとして化学工学研究室に滞在中。

理研の化学工学研究室は、ここ1年近く私の第2の故郷でした。あっという間に1年が過ぎましたが、フィンランドと日本での仕事の違いを、時にはつらい試行錯誤を通じて私は学びました。そのような乏しい私の体験を2、3紹介したいと思います。

まず第1に嬉しかったことは、同僚達の多くが9時すぎに仕事にやって来ることに気付いたことでした。理研から歩いてわずか10分のところに住んでいるので、朝ゆっくり眠ることができました。暗く凍てつくフィンランドの朝、6時に起きて8時すぎに仕事場に入ることに比べれば、とても嬉しいことでした。ところが、この楽しみもつかの間で、次には理研の勤務時間には終りがないことに気付いたのです。フィンランドでは8～9時間働けば家に帰ることができました。しかし、理研では、11時間以上もコンピューターの前に座っていることもしばしばでした。研究室の皆もそうであり、向うでは休日だった土曜日さえもそうなのです。研究とは時間というノルマで限定できないものかもしれません。この新しい環境になれるために、毎日の仕事の流れも変えねばなりませんでした。

必ずしも研究のみに限らない研究室での終りなき日々でしたが、同僚たちと日本流におつきあいし、大変楽しい思い出もたくさんあります。ボーリング、テニス、旅行、研究室の中で作った夕食、それにパーティなどは、研究室にくつろいだり暖かくて親しみ易い雰囲気をかもし出してくれました。こういう環境なので、仕事がとても気分よくやれました。これはフィンランドに持ち帰りたいことです。しかし、フィンランドでは政府が国民の飲酒について厳しく規制しているので、理研の食堂での金曜バーや、いつも大入りの研究室バーを故郷に持ち込むことは無理でしょう。

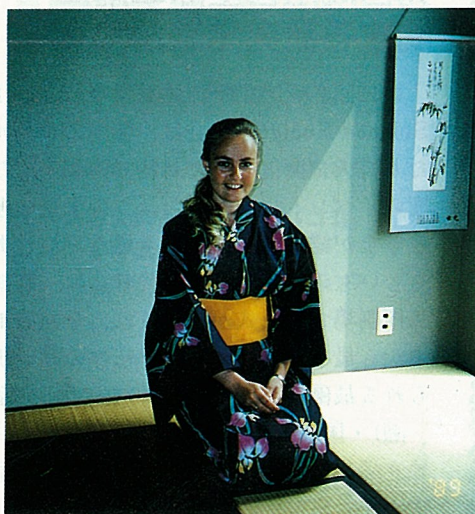
私が日本に無くて淋しいと思ったことは、フィンランドの4週間の夏休みです。1週間位の夏休みはとれましたが、もっと風光明媚な日本の各地を見てまわったり、生花レッスンなど興味あることをやりたかったと思っています。

理研とフィンランドでの研究に関連しては、予算や古い機器類の問題は共通だと思います。ただ日本の研究組織は、故国と比較して多少違っています。日本では、フィンランドのように上役をファースト・ネームで呼ぶことはしません。それゆえに、チームワークという言葉も違った意味を持ちます。日本の研究チームは、権威をもったリーダー

がいて、その下に仕事をする人がいるようです。一方フィンランドの研究チームというのは、ある分野の専門家の集団と考えられていて、階級という木では同じ枝に位置しながら一緒に仕事をするチームを形成しています。そのトップは、チーム全員が協力して仕事ができるよう導いていくことに長じる人なのです。国が違えば組織もその活動方法も異なることは当然かも知れません。

英語が、科学分野での公用語ではないと気付いたのも驚きでした。日本語がわからないために、何か特別な情報を逃しているのではないかという疎外感も時々感じました。フィンランドでは、研究関係の会合すべてにおいて、フィンランド語ができない人が1人でもいる場合には、その会は英語で行われるのです。あらゆる出版物、研究室の年報類ほとんどが英語です。幸いにも、私には、実験を助けてくれたり、機器類のマニュアル、薬品の名前、ぼう大な量の書類の作成など翻訳、通訳してくれる学生をつけてもらいました。この学生さんは私から英語を覚え、私は実験室で使う日本語を彼から教わりました。漢字は十分読めませんが、「開」、「閉」を覚えるのに、字の形のイメージを持つことが重要であることが分かって来ました。

いずれにいたしましても、研究や日常生活を通し、私は理研ですばらしい1年をすごしました。私の人生で特別な期間を与えて下さいました遠藤主任研究員をはじめ研究室の皆様方、ならびに多くの理研の方々に感謝したいと思います。



理研シンポジウム (12、1月分)

テ マ	担当研究室	共催・協賛	開催日
大規模科学技術計算	計算機委員会		12/5、6
原子核の集団運動と核反応機構	放射線 サイクロトロン リニアック		12/18、20
生命現象のダイナミクス	結晶学		1/8、9
中性子・X線の磁気散乱	磁性		1/9
第7回ライフサイエンスシンポジウム 「遺伝子発現の制御機構」	分子腫瘍学		1/11
均一系と不均一系触媒の接点	有機金属化学	触媒学会	1/16
第12回「レーザー科学」	レーザー科学 研究グループ	応物・物理、レー ザー学会他	1/17、18
リングサイクロトロンによる物性材料・原 子過程・核化学・生物医学の研究	核化学		1/20
宇宙放射線の観測	宇宙放射線		1/26

理研の主な公開特許

平1-244362 pH測定用発光プローブ錯体及び
pH測定法

反応物理化学研 金子 正夫他 4名

〔目的〕発光性の金属錯体からの発光強度が溶液のpHに依存することを利用し、光でpHを測定する方法。

平1-230534 プロモフルオリドの合成法

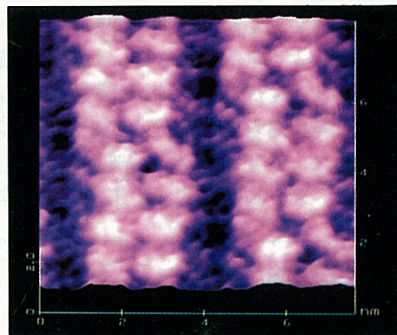
制御分子設計研 清水 真 中原 悠子
吉岡 宏輔

〔目的〕オレフィンに四フッ化ケイ素とジメチルプロモヒダントインを反応させてフッ素を含む特異的な機能物質の中間体として利用されるプロモフルオリドの合成法であって、高収率が特徴。

スポットニュース

走査型トンネル顕微鏡で、
有機～バイオ分子の直接観察に成功

国際フロンティア研究システム・分子素子研究チームの原研究者らは、走査型トンネル顕微鏡を用いて有機分子1つ1つの構造とその配列の観察を行っている。同チームでは、化学の教科書に登場するような有機分子の構造を、実際に見ることに成功した。特に、バイオ系の分子の直接観察は、世界的にも珍しく高い評価を得ている。今後、1分子内の電子の分布を観察したり、分子をつまむピンセットにも応用することが期待されている。



同顕微鏡で観察された液晶分子の配列。1つ1つの分子が規則正しく並んでいる様子が分る。暗い部分に、アルキル鎖の炭素原子の列が見える。



恐竜の卵

—コロラドの魔の谷からリニアックへ—

理研の創設にかかわった長岡半太郎は1903～4年にすでに原子モデルを提出していた。このモデルは原子スペクトルと放射能を考慮したもので、中心の陽電荷球の大きさについては何も語らない。のちにラザフォードが、アルファ線を金などの重い元素にあてるとはね返ってくること（ラザフォード後方散乱：RBS）を発見した。この現象を説明するのに原子のほとんど全質量が一点に集中していること（有核モデル）がどうしても必要になった。こう見てくると長岡はこの問題と会ったのが早すぎたため無核モデルにとどまった。もう少しあとだったら有核モデルも散乱公式もラザフォードではなく長岡の名がついていたのでは、と、つい残念に思う気持ちが湧く。

その後、長い間、というより今でも散乱といえばRBSで後方散乱のことになるが、理研のリニアック（線型加速器）で重イオンビームがふんだんに使えるようになって、ようやく散乱が全方向散乱になってきた。重いイオンが軽い元素をはじき飛ばす前方反跳や重いイオンが方向を少しそらされる前方散乱がたやすく出来るようになったのも重イオン加速器があればこそである。このことの応用上の意義は、重要さの割にはまだ充分理解されていない。これは重イオンをふんだんに使える施設と人と問題意識が限られているためであろう。しかしこの手法は多元素同時非破壊深度分布測定法として、高純度電子材料の多層膜試料に威力を発揮し、最近では鉱物等の天然試料に対しても適用範囲をとみに広げている。

つい最近のことだが、恐竜の卵がコロラドの魔の谷からリニアックまでやってきた。かつて恐竜の親達が絶滅した時、まだ卵だったのが比較的温かな条件で堆積し、後に発掘されたものの破片である。この卵が理研に来たのは、長年カナダの地質調査所において北米の地質事情に詳しい島根大学のT助教授による。本来、

火山ガラスの生成についての試料の一つであったが、われわれの手法の特徴から見て、恐竜の絶滅にかかわる知見も得られるのではないかと考えた。それというのも、恐竜の絶滅には、見てきたようなまことしやかなものから荒唐無稽なものまで、いろいろ説があって混沌としている。その中でこれは本当かも知れないと思わせるのが隕石落下説である。衝撃で塵、埃が舞い上り、空が暗くなって、まず植物、次に草食動物、最後に肉食動物が死滅したというようなストーリーである。地質学者によれば、この時降り積もった薄い地層が世界各地で見つかり、隕石からのイリジウムが高濃度に含まれているということである。

それならばということで、とに角破損などしないうちに従来法では問題にできないような軽元素や重元素に着目して微量ピークも含め、殻の表から裏まで測定しておいた。この全方向散乱スペクトルを解読するには実験の段取り上、まだ多少時間を要する。一番重要なのはいろいろな標準試料との比較対照である。方解石や石英、それに白色や茶色のにわたりの卵、その表と裏、裏は薄皮の有無等でも測定した。標準試料としてイリジウムも重要で、これはさしずめ地球外物質の代表である。分析室からせっかく調達してきた粉末イリジウムの小瓶を前にして、「恐竜の卵を扱う同じ環境でこういう粉末は一粒たりとも扱うべきでない」ということになり、いま、リボン状イリジウムの入荷待ちである。殻の中のイリジウムの有無、多少、深さ分布がわかれば、新説誕生である。

核化学研究室

研究員 荒谷美智



Colorado, U. S. A. より採集した恐竜の卵の殻の走査型電子顕微鏡写真 方解石の結晶を見ている。

理化学研究所ニュース NO. 107, NOVEMBER 1989

発行日・平成元年11月30日

編集責任者・佐田 登志夫

編集発行・理化学研究所

問合せ先・開発調査室(内線 2744)

〒351-01 埼玉県和光市広沢2番1号

電話 (0484) 62-1111(代表)