接木による形質転換

高等植物の接木は古代ギリシア時代より果樹の栽培技術として広く用いられてきた。さらに今日でも、果樹、野菜、花き栽培に欠かせない技術の一つである。それは目的の栽培植物（穂木または台木）の生理的性質を改善するためであり、病害を一時的に防ぐための、また栄養繁殖のための技術である。

しかし、接木によって生じた形質の変異が接木当代植物だけにとどまらず、世代を越えて遺伝するとの主張が、ダーウィンの時代より存在した。その後、パーパンクやミチューリンによっても接木雑種の例がいくつか上げられている。1930年代より1950年代にかけてこの問題についての再検討がなされ、おもにナス科植物で接木変異の存在が確認されるにいたった。わが国では、トウガラシを用いた Yagishita⁽¹⁾ や笠原ら⁽²⁾ その他の精力的な研究により、接木変異の特徴が次第に明らかになってきた。笠原らは果実の色、着果習性の異なる7品種を用い、膨大な接木実験を行なった結果、穂木植物が若いほど、また台木の葉数が多いほど穂木に由来する後代の変異率が高いことや、変異形質の遺伝行動は必ずしもメンデルズムには従わないことなどを明らかにした。Yagishita も、アマトウガラシ（ピーマン）にヤツブサトウガラシを接木し、穂木ヤツブサに果形の変異を認めるとともに、その変異は反復して接木することにより高くなることを見いだした。しかも、それらの後代に草型、果色、カプサイシン含量などの変異も認められ、得られた変異諸形質は30世代以上も自殖により継代している。遺伝行動も、交配による場合とかなり異なることなどが詳細に調べられている⁽³⁾。

その後、トウガラシ、トマト、ナス、ペチュニア、ダイズなどでも追試に成功し、接木変異の存在が一般に認

められるようになってきた。近年、こうした接木による遺伝的変異の誘発現象がなぜ起こるのかという問題へのアプローチがようやく開始され⁽⁴⁾、トウガラシを用い、通常の接木による変異と、接木部にソラマメの萎凋病ウイルス (BWV) を感染させた接木実験では、後者のほうが前者より、変異率の高いことが見いだされた。これらのことから、接木による遺伝的変異の出現は、形質導入や形質転換現象と関連した現象であろうとされている⁽⁵⁾。またこの間、核のトータル DNA を発芽途上の種子や花粉に処理して形質転換を誘導する研究がいくつか行なわれ^(6,7)、高等植物の遺伝子導入の端緒が開かれた。しかしその時点では、特定の単離された遺伝子を形質転換実験に用いることができる段階に達しておらず、結果の再現性、信憑性に疑問や批判が多かった。

現在、高等植物への外来遺伝子を導入したトランスジェニック植物が比較的容易に得られるようになり、接木変異のメカニズム研究がさらに進展始めている。

Hirata ら⁽⁸⁾ は、カナマイシン抵抗性 (Km^r) 遺伝子とノバリン合成酵素 (Nos) 遺伝子を導入したタバコを台

図1 ■ Km^r ・ Nos 遺伝子を持つトランスジェニックタバコ (ST) に正常タバコ (SC) を接木した状態
穂木の葉は先端の2〜3葉を残し切除する。

図 2 ■ 接木穂木より得られた Km^r 植物の自殖次代 (F_2) をカナマイシン硫酸培地 (100 $\mu\text{g/ml}$) でスクリーニングしたときの分離状態
白化したものはカナマイシンに対して感受性.

木に、正常タバコ品種 SR 1 を接木し (図 1), その穂木朔果に由来する種子をカナマイシン硫酸 100 $\mu\text{g/ml}$ を含む培地上でスクリーニングしたところ、30,000 余りの種子より 6 個体の Km^r 個体を得た。これらの形質転換体をテストクロスや自殖により変異体の遺伝分析をしたところ、 Km^r 遺伝子が相同染色体の一方だけに 1 個導入されていると考えられる場合 (図 2), 両方にホモに導入されていると考えられる場合、さらに 2 個以上導入されていると考えられる場合の 3 つの異なる導入状態の変異体が見いだされた。しかも、これらのうち 1 個体は、カナマイシン培地で第一本葉、第二本葉が黄化ないし白化する漏出型変異体であり、しかももう 1 つの指標形質であるノバリン合成酵素を生産していなかった。さらにこれらの自殖世代 (F_2 , F_3) では、 Km^r と Nos 遺伝子は漏出型変異体の後代系統を除き両形質は完全に連鎖していたが、遺伝行動自体は、メンデル式遺伝と非メンデル遺伝とが混在し、複雑、不安定であった。現在さらに、接木変異体の DNA の解析が進められている。

以上の知見は、接木により誘起される遺伝的変異が最近の外來遺伝子の導入の過程で認められるプロセスと類似しており、そのことは一般には視野に入れられていなかった維管束系を DNA が接木面を介して移行し、その DNA がソースとなって穂木の成長点の生殖細胞で核ゲ

ノムへの形質転換が生じていることを強く示唆している。このことについては、本誌で柳下⁹⁾が言及している。また、この接木による形質転換現象が非組織培養系の遺伝子導入法として利用可能であることも示している。

さらに、従来キメラ植物についても、キメラを構成する異種組織は互いに独立していて、遺伝的相互作用はないものと見なされていたが、*Brassica* の品種間および種間キメラを作出して行なわれた実験では、遺伝的相互作用が低頻度ながら生じている可能性のあることが示されている (Hirata, 投稿中)。いずれも遺伝学上の古くて新しい問題を投げかける事実であろう。

今後、組織レベルで遺伝的に特異な酵素を合成する *GUS* 遺伝子などを用いて、接木植物やキメラ植物の個々の細胞内外での形質発現と遺伝子の挙動を組織化学的に調べるなどの方法で、さらに新しい知見が得られるものと思われる。

- 1) N. Yagishita: *Bot. Mag. Tokyo*, **74**, 122, 480 (1961).
- 2) 笠原潤二郎, 中村 毅, 米山陽太郎: 育種学最近の進歩, 第 13 集, p. 61 (1971).
- 3) N. Yagishita & Y. Hirata: *Euphytica*, in press.
- 4) Y. Ohta & P. V. Chuong: *Euphytica*, **24**, 355, 605 (1974).
- 5) 太田泰雄: サイエンス, No. 7, 100 (1977).
- 6) D. Hess: *Z. Pflanzenphysiol.*, **60**, 348 (1969).
- 7) L. Ledoux, Huart & M. Jacobs: *Nature*, **249**, 17 (1974).
- 8) Y. Hirata, H. Sassa & N. Yagishita: *Proceedings of the IV th SABRAO Meeting*, in press.
- 9) 柳下 登: 化学と生物, **7**, 460 (1969).

(平田 豊, 東京農工大学一般教育部)