雑草防除分野におけるDNA操作

南 栄一 農水省農業環境技術研究所

Eiichi MINAMI : Biotechnology in Weed Science

はじめに

近代生物学のめざましい発展は医学・農学などの関連領域にも多大の影響を及ぼしてきた。分子生物学の手法を駆使することによって、ガンや免疫学の研究は飛躍的に発展した。また現在の技術では化学合成が面倒なインシュリンやヒト成長ホルモンなどは組換えDNA技術によって容易に大腸菌に作らせることができるようになった。一方農学分野においても細胞融合や組換えDNA技術による作物への新機能の付与が試みられている²⁾。本稿では農業上重要な課題である雑草防除にこれらの技術がどの様に応用されようとしているかを紹介する。雑草防除分野でのDNA操作の可能性についての解説は、これまで、いくつか試みられている^{1,7,24,29)}が、ここでは、一歩進んだ最新の知見に基づいて詳述してみたい。はじめに、組換えDNA技術の基礎となる遺伝子とその発現について解説する。

遺伝情報

一部のウイルスを除いてほとんど全ての生物の遺伝子の本体はDNA (Deoxyribo Nucleic Acid) である。DNAは4種の塩基(アデニン、グアニン、シトシン、チミン、それぞれA, G, C, Tと略記)が直線につながった高分子で、遺伝子はこのA, G, C, Tのうちの3つの一見 at random な組合せ(遺伝暗号)が集まって形作られている。各遺伝暗号はタンパク質を構成するアミノ酸に対応することがわかっている。例えばATGはメチオニンを、GTGはバリンをそれぞれコードする。遺伝暗号がつながってきた遺伝子は一まとまりのつながったアミノ酸、すなわちタンパク質の構造(正確に言えばアミノ酸の配列)を規定している。遺伝子の産物であるタンパク質は酵素として細胞内(時には細胞外)の代謝を調節したり構造タンパク質として細胞を形作る。この細胞が多数集まって多細胞生物という生命体になる。このようにみれば遺伝子のもつ情報がタンパク質にまで発現するという過程は生命活動の

もっとも根元的な現象であるといえる。

DNAの遺伝情報(塩基配列)はまずRNAポリメラーゼと呼ばれる酵素タンパク質によってRNAに読みとられる。この過程は転写(transcription)と呼ばれる。転写によって作られたRNAはその機能によってリボソームRNA(rRNA)、トランスファーRNA(tRNA)、メッセンジャーRNA(mRNA)に分類される。このうちタンパク質の遺伝情報を担っているのはmRNAである。mRNAはDNAから読み取られたのち加工・修飾されてリボソームと呼ばれる細胞内小顆粒に運ばれ、そこで遺伝暗号がタンパク質に変換される。これを翻訳(translation)という。合成されたタンパク質のあるものは糖鎖付加などの一連の修飾(翻訳後修飾と呼ばれる)をうけたのち、細胞内の、また分泌タンパク質として細胞外の所定の場所に輸送され、そこで機能を発揮する。基本的には遺伝情報はDNA→RNA→タンパク質の順に流れる(第1図)。1960年代に主として大腸菌とファージを用いて解明されたこの図式はセントラルドグマと呼ばれ、一部のウイ

第1図 遺伝情報の流れ(セントラルドグマ)

mRNA, tRNA, rRNAはそれぞれメッセンジャーRNA, トランスファーRNA, リボソームRNAを示す

ルスを除くすべての生物にあてはまる。

動植物のような高等真核生物では細胞内に膜系が発達し、核、小胞体、ミトコンドリアなどの細胞内小器官(オルガネラ)が観察される。このうち DNA はその大部分が核に、一部がミトコンドリアと、植物細胞の場合に葉緑体に存在し、これらの DNA はそれぞれの場所で遺伝子として機能している。ただしミトコンドリアおよび葉緑体の DNA が有する遺伝情報の量は核 DNA に比べて少なく、質的にも自分自身の構成タンパク質をコードするものに限られている。このように遺伝子が細胞内の異なる区画にわかれて局在するという特徴は真核生物にのみ認められるものである。

以上に述べた基礎生物学をふまえて今日のバイオテクノロジーの一つである組換え DNA 技術は発展し、様々な分野に応用されてきている。このうち基礎となる分子生物学、細胞生物学の詳しい知識についてはすぐれた成書^{1,37)}にゆずり、本稿では雑草防除、特に除草剤抵抗性植物の作出について以下に述べていきたい。

組換え DNA 技術と除草剤抵抗性賦与

雑草防除にはいろいろな方法があるが現在頻用されているものの一つに除草剤がある。一般に、ある化合物が農薬として用いられる条件としてまずそれが目的の生物活性を持ち、かつその生物活性が防除の対象となる生物に限定して発現する、即ち薬効の選択性が求められる。この点で除草剤の場合には保護されるべき作物も防除されるべき雑草も、形態的にも、また生理生化学的にも基本的に類似しているものの、化合物それ自体に選択毒性をもたせることが可能で、すでに多くの選択性除草剤が開発・実用化されている。一方、見方をかえて作物の側に抵抗性をもたせることによって除草剤に選択毒性を与えようとする考え方が生まれた。細胞培養技術並びに組換え DNA 技術等、バイオテクノロジー手法の利用である。現在タバコ等のモデル植物を用いた実験が行なわれている。

植物細胞がもつ、動物細胞ともっとも異なる属性の一つは分化全能性 (totipotency) である。ネズミの細胞はいくら培養してもネズミ個体にはならない。しかし (すべての、とはいかないが) 植物細胞は条件を整えてやれば、単一細胞からもとの完全な個体を再生する。この性質を利用して、例えば、あらかじめ γ 線照射などによって突然変異を誘発した培養細胞を除草剤 A で選抜し、A 抵抗性の細胞か

ら植物を再生させればそれは A に抵抗性の植物となる可能性が高い。ただし、この場合には抵抗性の生理生化学的機構はブラックボックスのままである。

除草剤 A に対する抵抗性遺伝子 a が単離されているような場合には抵抗性賦与に組換え DNA の技術を用いることができる。現在植物に外来遺伝子を導入する際によく用いられているのは *Agrobacterium tumefaciens* (根頭癌腫病菌) を用いた生物学的方法^{26,28)}、電気パルスやポリエチレングリコールを用いた直接導入法²⁸⁾である(第2図)。*A. tumefaciens* はユリ科を除く単子葉植物を宿主としないため、これらの植物には遺伝子は後者の方法で導入される²⁸⁾。このような、通常のかけあわせによらない方法で遺伝子を導入された生物または細胞は形質転換体 (transformant) と呼ばれる。導入する形質 (= 遺伝子) によっては植物に病害虫抵抗性を賦与することも可能である。例えば殺虫性タンパク質をコードする BT (*Bacillus thuringiensis*) の遺伝子を *A. tumefaciens* を用いてタバコ細胞に導入したのち再生させた植物個体はタバコスズメガ幼虫の食害をうけなくなった³⁶⁾。すなわち形質転換タバコが BT タンパク質を生産し、葉を食べた幼虫は死ぬというわけである。ここで大事な点が二つある。一つは導入遺伝子の産物が植物に有害であってはならない、という点である。一見、植物に何の影響もないと思える遺伝子でも対照区に比べて形質転換植物の生育に顕著な阻害をおよぼすことがある。第二には、抵抗性を賦与する遺伝子がきちんと同定、単離されていないなければならない。

除草剤に関連した組換え DNA 技術

話を除草剤にもどそう。上の節の最後に述べたことは除草剤 A の抵抗性遺伝子 a にもあてはまる。まず遺伝子 a なるものを同定しなければならない。そのためには除草剤 A の作用機構を生理生化学的に把握しておく必要がある。また自然に発生する除草剤抵抗性植物の抵抗性機構を知ることも大切である。これは次の四つに大別されるようである¹⁷⁾。①細胞内での代謝による解毒、分解。②標的タンパク質の大量生産による阻害の克服。③標的タンパク質の変異による結合能の変化。④植物体表面からの吸収、移行の低下。このうち、④の場合は、細胞膜の変化など数多くの要因が複雑に関与しているものと推察され、関与する遺伝子も多分複数でその同定は容易でない。一方、①～③についてはそれをヒントとして実際に抵抗性植物が作られている。事例をみてみ

第2図 植物への遺伝子導入の方法の模式図

よう。

1. スルホニルウレア系除草剤に対する抵抗性植物

スルホニルウレア系除草剤の一つ、クロルスルフロン (chlorsulfuron) はアセト乳酸合成酵素を特異的に阻害する²³⁾。この酵素はピルビン酸からパリン、ロイシン、イソロイシンのような、側鎖に枝分れ構造を持つアミノ酸の生合成経路の第一段階を触媒しており¹⁹⁾、これが阻害されると植物はこれらの体内アミノ酸量の欠乏により枯死に至る。クロルスルフロン抵抗性植物作出の試みはタバコ培養細胞を用いて行なわれた。まずクロルスルフロン抵抗性の培養

細胞系統を確立し⁷⁾、そこから植物体を再生させたところ、その個体は野生型タバコに比べて抵抗性が約1000倍も増大していた⁸⁾。同様の結果はシロイヌナズナを用いても示された¹⁸⁾。次にこの抵抗性タバコおよびシロイヌナズナ植物体からアセト乳酸合成酵素の遺伝子を単離し構造を解析したところ、この酵素タンパク質のN-末端から197番目のアミノ酸がプロリンからセリンに置換されていた²³⁾。この変異遺伝子を野生型タバコに導入したところ、そのタバコはクロルスルフロン抵抗性となった²³⁾。

2. ホスフィノスリシン抵抗性植物

放線菌の一種 *Streptomyces hygroscopicus* が生産

する生理活性物質ピアラホス (bialaphos ; L-phosphinothricil-L-alanyl-L-alanine) は、当初殺菌剤としてスクリーニングされたが現在では除草剤として用いられている。その作用点はグルタミン合成酵素である²¹⁾。この酵素はグルタミン酸にアンモニアを固定してグルタミンを合成する反応を触媒し、これが阻害されると遊離のアンモニアが体内に蓄積してチラコイド膜の膨潤をひきおこし、葉緑体が破壊される。ピアラホスの阻害活性の本体はホスフィノスリシン(PPTと略す)にある。PPTは広く動物、植物、微生物のグルタミン合成酵素を阻害する。ではPPTを生産する *S. hygroscopicus* はその阻害をどのようにして回避しているのか？ この放線菌はPPT-アセチル化酵素を持っていて細胞内のPPTをアセチル化して解毒している⁴⁾。そこでPPT-アセチル化酵素の遺伝子をこの微生物から単離し、植物体内で発現可能な形に改変してタバコ細胞に導入し得られた再生植物体を調べてみたところ、野生型タバコに比べて4~10倍のPPT抵抗性を獲得していた³⁵⁾。またこの抵抗性タバコはみかけ上正常に発育し、種子もできた。PPT-抵抗性についてはもう一つ別のメカニズムが知られている。アルファルファの種々の培養細胞系統の中で通常のものに比べて20~100倍PPTに抵抗性を持つ系統が見出された¹¹⁾。この系統ではグルタミン合成酵素の活性が3~7倍も上昇していた。さらに詳しく調べたところ細胞あたりのグルタミン合成酵素遺伝子の数が増加しており、それに比例して酵素タンパクが多量に生産されていることがわかった¹⁶⁾。以上述べた二つの原理に基づく抵抗性植物の作出はピアラホスについても試みられ、研究が進展中である³⁾。

3. グリホサート抵抗性植物

標的タンパク質の大量生産による抵抗性獲得というパターンはグリホサート抵抗性植物においても観察されている。光合成によって固定された炭素の約20%はシキミ酸経路と呼ばれる代謝経路に入り、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファンのような、側鎖にベンゼン環構造を持つアミノ酸となる¹⁹⁾。この経路の酵素群のうちグリホサートは5-エノールピルピルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPSと略記)を阻害する³²⁾。またグリホサートはサルモネラ菌のような微生物のEPSPSを阻害することも知られている。グリホサートで選抜したペチュニア培養細胞の系統について抵抗性機構が解析された^{30,33)}。いずれもEPSPS遺伝子の数が増加しており³⁰⁾、その結果大量生産されたEPSPSが量的

にグリホサートによる阻害を克服していることがわかった。同じような実験が *Corydalis* の培養細胞についても行なわれた。ただしこの場合、抵抗性系統においてEPSPSの酵素活性上昇がみられたが細胞あたりの遺伝子数には変化がなかった²³⁾。これはEPSPS遺伝子の発現(転写)を調節する領域(プロモーター領域)が何らかの変化をうけてmRNA量が増加したか、あるいはmRNAの構造的安定性が増大したためと考えられる。このように特定の環境下で特定の遺伝子の構造や数が変化する現象はそれ自体大変興味深いものであるが、その機構については現在のところ何一つわかっていない。話をペチュニアにもどす。野生型ペチュニアより単離したEPSPS遺伝子を若干改変して1遺伝子あたりの転写量がふえるようにしておき、これを導入したペチュニア細胞から再生させた植物体は予想通りグリホサートに対して4倍以上の耐性を示した³⁰⁾。この場合グリホサート散布区は対照区に比べ生育に若干の遅れが生じた。これに対してグリホサート抵抗性を獲得したペチュニアより単離したEPSPS遺伝子を導入したペチュニア植物体ではグリホサートを散布した場合でも生育遅延はみられなかった²³⁾。同じ大量生産でも薬剤非感受性酵素を作らせた方が抵抗性賦与に有利であることを示すものといえる。

除草剤耐性植物作出の現況と可能性

これらの実験で共通しているのは対象となった除草剤が(少なくとも通常使用濃度では)単一の酵素を標的としているということである。したがって特定の酵素を標的とする除草剤についてはその抵抗性植物をこれ迄に述べたいずれかの手段で作出できる可能性があると考えられる。さらに指摘しておきたいのは、PPT-アセチル化酵素の例にみられる様に導入遺伝子は植物由来のものでなくてもよいということである。もちろんバクテリアの様な下等生物と植物のような高等生物とでは遺伝子発現の調節をつかさどる因子に若干のちがいがあって^{1,3,7)}、そのためPPT-アセチル化酵素遺伝子を導入するにあたっては発現調節領域(プロモーター領域)の改変を必要とした³⁵⁾。しかしタンパク質自体の構造を規定する遺伝暗号は特殊な例を除いてバクテリオファージからヒトにいたる迄普遍的であり³⁷⁾、それ故に放線菌のPPT-アセチル化酵素はその遺伝子をタバコで発現させてもやはりPPT-アセチル化酵素でありうるのである。特に除草剤の標的酵素遺伝子に変異をおこさせる場合、遺伝情報量のより少ない(すなわ

第3図 本文でとりあげる除草剤の構造式

ち細胞あたり DNA 含量のより少ない) バクテリアを用いた方が、目的とする変異遺伝子を単離するのにより有利である。この考え方に依拠して研究が行なわれているものとしてジフノン (diflufenon: 第3図) やノルフルラゾン (norflurazon: 第3図) のようなカロチノイド生合成を阻害する除草剤がある。これらはカロチノイド生合成の中間産物であるフィトエンの不飽和化酵素を阻害する¹³⁾。この酵素は光合成を行なうバクテリアの一種であるラン藻にも存在している。最近、この除草剤に抵抗性になったラン藻変異株から本酵素の遺伝子が単離された⁹⁾。おそらく植物への導入が計画されているものと思われる。

光合成阻害型除草剤のバイオテクノロジー

作用機構から除草剤を分類した場合に大きなグループをなすものとして光合成阻害剤がある。これらはその構造からトリアジン系、フェニル尿素系などに大別され、その大部分は光合成の光化学反応を阻害する¹³⁾。これら光合成阻害剤のいくつかは作用機構が詳細に解析され、光化学反応機構の解明に大いに役立った。ここではまず、光合成の場である葉緑体について解説する。葉緑体 (chloroplast) は二重の包膜によって細胞質から隔離され、内部にチラコイド膜と呼ばれる膜系が発達していて光化学反応を行なう酵素群がここに局在している²⁵⁾。それ以外の可溶性部分はストロマとよばれ、光化学反応に

よって生産されたエネルギーと還元力を用いて CO₂を固定する酵素群が局在する²⁵⁾。この他、脂肪酸やアミノ酸生合成に関与する酵素もその多くがここに存在することが知られている²⁵⁾。ストロマのこれらの諸酵素のほとんどはその遺伝子が細胞核に存在し、核内で mRNA に転写され細胞質のリボソームによってタンパク質に翻訳される。その際余分なポリペプチド (transit peptide) を持った分子量の大きなポリペプチドとして生合成される^{6,12)}。一例をあげると、CO₂固定回路 (Calvin-Benson Cycle) にあつて CO₂固定反応を触媒するリブローズ-1, 5-ジリン酸カルボキシラーゼ (RuBPCase) を構成する2種のサブユニットのうち分子量14,000の小サブユニットは、核遺伝子にコードされ^{12,22,34)}、分子量約20,000の前駆体として翻訳された後、包膜を通過して葉緑体ストロマに移行する。その後、限定的に加水分解されて成熟型の大きさとなり葉緑体内で合成される大サブユニット (分子量55,000) と会合して完全な酵素を作る。この過程で余分なポリペプチドは小サブユニットが葉緑体に移行する為のシグナルの役目を持っており、葉緑体内で加水分解されて役目をおえる。一方葉緑体はミトコンドリアと同じく内部に小さな遺伝子 DNA を持ち³¹⁾、葉緑体を構成する全タンパク質のうち約100種程度は葉緑体内で合成される⁶⁾。このうちチラコイド膜に局在する光化学系の重要な酵素サブユニット群の多くは葉緑体 DNA にコードされている。

第4図 植物細胞内での遺伝情報の流れ

N:核, C:葉緑体, M:ミトコンドリア

ここ数年来話題になっているトリアジン系除草剤の結合タンパク質 (psb A タンパク質とも呼ばれる) も葉緑体 DNA に支配されている³¹⁾。このタンパク質は光化学系 II の反応中心²⁷⁾で DCMU のようなフェニル尿素系除草剤の結合部位でもある¹⁶⁾。psb A は葉緑体 DNA の中でも比較的早くにその構造が解析され、317 アミノ酸からなる疎水性タンパク質であることがわかっていた^{17,31)}。ホナガアオゲイトウのアトラジン抵抗性および感受性系統について psb A の塩基配列を調べたところ、アミノ酸にして N-末端から 228 番目のセリンが抵抗性系統ではグリシンに置換されていた²⁰⁾。それ以外のアミノ酸配列には全く変化がなかった。抵抗性系統の psb A タンパク質はアトラジンの結合能を失っていた。

ところで、外部から人為的に導入した遺伝子は核 DNA にそう入され安定化される場合がほとんどであって、葉緑体にまで移行したという報告は筆者の知る限りただ一つあるのみである⁵⁾。従って psb A のような葉緑体 DNA 上の遺伝子でもあらかじめそれを単離して再び人為的に植物に導入してやると、それは細胞核の遺伝子となる。一方細胞核遺伝子産物には RuBPCase 小サブユニットのように transit peptide を持ち、葉緑体へ移行するタンパク質がある。これらの事実に着目した欧米のグループがアトラジン抵抗性ホナガアオゲイトウの psb A 遺伝子をタバコに導入し、アトラジン抵抗性を付与することに成功した¹⁰⁾。psb A のアミノ酸コード領域のすぐ前に RuBPCase 小サブユニット遺伝子のプロモーター領域および transit peptide コード領域をつなぎあわせたキメラ遺伝子を *A. tumefaciens* を用いてタバコに導入した。この形質転換タバコは 100 μ M のアトラジンを 10 日間処理しても枯れなかつ

た。詳細な解析の結果、これらのタバコ細胞核には導入したキメラ遺伝子が組み込まれており、葉緑体チラコイド膜にはキメラ遺伝子の翻訳産物が存在していた。この翻訳産物は正常のものに比べて分子量が 3000~5000 程度大きかった。これは付加された transit peptide に由来するものと考えられる。この実験事実は間接的ながら葉緑体遺伝子の機能を組換え DNA 技術によって改変できる可能性を示した点で将来への展望を拓いたといえよう。その他、葉緑体改良法として試みられているものに培養細胞レベルでの選抜や連続戻し交雑による細胞質置換法¹⁵⁾があるがここでは省略する。

基礎的研究の重要性とむすび

以上が除草剤抵抗性付与に関する細胞および分子レベルからのアプローチの現況である。これらはいくつかの解決しなければならない問題点を包含している。まず第一に、植物への遺伝子導入技術が（本文では簡単のように書いたが）決して完成されたものとは言えないことである。細胞、或いはプロトプラストに遺伝子を導入することができてもそれが植物体に再生してくれなければ実用上意味がない。イネについてはカルスからの再分化的方法が確立されている¹⁴⁾が、他の重要作物の多くは植物体への再生ステップがうまくいかないのが現状である。第二に、このようなアプローチがすべての除草剤について適用できる訳ではないことである。パラコート抵抗性の例でみられる様な、生体への吸収移行能の低下は複数の要因の相互作用と考えられ、それらの要因が同定、単離されない限り組換え DNA 技術は使えないといえよう。本稿でとりあげた除草剤はすべてその作用点が酵素のレベルで正確に把握されているものである。かつ、少なくとも通常使用濃度では作用点が特異的な一つの酵素に限定されている。このことは逆に除草剤の分子設計に貴重なヒントを与えている。ある酵素に特異的な阻害剤はその薬剤に抵抗性の作物を作出できる可能性を秘めていると言える。一般に農薬の作用点の解析は単に基礎科学としてのみならず、必ず実用面と連動するもので大変重要である。農薬の生理生化学的研究の一層の発展が望まれる。第三に、遺伝子を導入したことによって作物の生育に悪影響が出ないことが必要である。また植物に無害でも人間に有害な作用を持つ遺伝子を用いる訳にはいかないことはいうまでもない。更に、導入した形質の個体内、或いは種内での安定性もまた重要である。実験室内で賦与した除草剤抵抗

性という特性が畑や水田といった野外環境下で目的外の植物(=雑草)に伝播することがあっては大変である。日本では植物への遺伝子導入を行なうには科学技術庁の許可をうけ、組換え植物は隔離温室で育てることになっているがバイオテクノロジーの急激な進展に伴ない、これらが野外で栽培される日も近いと思われる。その安全性を評価する為の基礎研究が日本でもはじまっている。日本は欧米に比べて植物を材料とした分子生物学は研究人口も少なく、立遅れが目立つ。この小稿がこの方面への興味と刺激になれば筆者にとって大きな喜びである。最後に、本稿を執筆する機会を与えて下さった農業生物資源研究所生理活性物質研究室長 坂育博士に感謝いたします。

引用文献

- 1) ALBERTS, B. *et al* : "Molecular Biology of the Cell" Garland Inc.
- 2) ANTÉBI, E and FISHLOCK, D. ed.: "Biotechnology". 渡辺 格監訳 (1988) 同文書院.
- 3) 安西弘行・米山勝美・堂嶋敬子・山口 勇 (1989) : 日本農業学会第14回大会講演要旨集, 32.
- 4) DE BLOCK M. *et al*. (1987) : EMBO J. 6, 2513.
- 5) DE BLOCK, M, J. SCHELL and M, VAN MONTAGU (1985) : EMBO J. 4, 1367.
- 6) BOTTOMLEY, W and H.J. BOHNERT, : in Encyclopedia of Plant Physiology Vol 14-B edited by PARTHIER, B. and BOUTLER, D. (1982)
- 7) CHALEFF, R. S. and T. B. RAY (1984) : Science 224, 1148.
- 8) CHALEFF, R. S. and C. J. MAUVAIS (1984) : Science 224, 1443.
- 9) CHAMOVITZ, D. and J. HIRSCHBERG (1988) : The Second International Congress of Plant Molecular Biology 講演要旨. No. 59.
- 10) CHEUNG, A. Y., L. BOGORAD, M. MONTAGU and J. SCHELL. (1988) : Proc. Natl. Acad. Sci USA 85, 391.
- 11) DONN, G., E. TISCHER, J. A. SMITH and H. M. GOODMAN. (1984) : J. Mol. Appl. Genet. 2, 621.
- 12) ELLIS, R. J. (1981) : Ann. Rev. Plant Physiol, 32, 111.
- 13) FEDCKE, C. : Biochemistry and Physiology of Herbicide Action. Springer Verlag (1982).
- 14) FUJIMURA, T. *et al*. (1985) : Plant Tissue Cult. Lett. 2, 74.
- 15) 古沢 巖・山田康之 : 細胞工学 4 (1), 62 (1985).
- 16) GARDNER, G. (1981) : Science 211, 937.
- 17) 畑 信吾 (1987) : 植物の化学調節 22(1), 27.
- 18) HAUGHN, G. W. and C. SOMMERVILLE (1986) : Mol. Gen. Genet. 204, 430.
- 19) HERRMANN, K. M. and R. L. SOMMERVILLE : "Amino Acids : Biosynthesis and Genetic Regulation" (Addison-Wesley) (1983).
- 20) HIRSCHBERG, J. and L. McIntosh, (1984) : Science 222, 1346.
- 21) IMAI, S. *et al*. (1985) : J. Antibiot, 38, 687.
- 22) KAWASHIMA, N. and S. G. WILDMAN, (1973) : Biochim. Biophys. Acta 319, 223.
- 23) KISHORE, G. M. and D.M. SHAH (1988) : Ann. Rev. Biochem 57, 627.
- 24) 松中昭一 (1985) : 農芸及園芸 60 (1), 187.
- 25) 宮地重遠編 : "光合成 I", 植物生理学 1. 朝倉書店 (1981).
- 26) 村井紀元 (1985) : 蛋白質・核酸・酵素 30, 1517.
- 27) NANBA, O. and K. SATOH (1987) : Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 84, 109.
- 28) 長田敏行 (1983) : 蛋白質・核酸・酵素 28, 1551.
- 29) 坂 育 (1987) : 農業技術 42 (5), 213.
- 30) SHAH, D. M. *et al* (1986) Science 233, 478.
- 31) 篠崎一雄 (1988) : 生化学 60, 1127.
- 32) STEIMRÜCKEN, H. C. and N. AMRHEIN. (1984) : Eur. J. Biochem. 143, 351.
- 33) STEIMRÜCKEN, H. C. *et al* (1986) Arch. Biochem. Biophys. 244, 169.
- 34) 杉田 護 (1988) : 蛋白質・核酸・酵素 33(15), 2559.
- 35) THOMPSON, C. J. *et al*, (1987) : EMBO J. 6, 2519.
- 36) VAECK, M. *et al* (1987) : Nature 328, 33.
- 37) WATSON *et al* : "Molecular Biology of the Gene" 4th edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.

(1989年9月6日受理)