



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	タバコ
Author(s)	山本, 義治; 小保方, 潤一
Citation	低温科学 = Low Temperature Science, 67: 39-41
Issue Date	2009-03-31
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/39090">http://hdl.handle.net/2115/39090</a>
Rights	
Type	bulletin (article)
Additional Information	



Instructions for use

## 7. タバコ

山本 義治<sup>1)</sup>, 小保方潤一<sup>1,2)</sup>

タバコは核・葉緑体の形質転換が可能であり、生化学実験にも適した研究材料である。本章ではタバコやタバコ近縁種の入手・栽培方法について紹介する。

### Tobacco

Yoshiharu Y Yamamoto, and Junichi Obokata

Tobacco can be used for nuclear and chloroplast transformation. It is also suitable for biochemical studies. In this chapter, we introduced methods for handling and growing tobacco plants.

#### 7.1 はじめに

タバコ (*Nicotiana tabacum*) は核<sup>1,2)</sup> と葉緑体<sup>3)</sup> の両方を形質転換できる数少ない高等植物である。また、パーティクルガンを用いた一過的な遺伝子発現の効率が高く、よく利用される。さらに、ウイルスベクターも開発されており<sup>4-6)</sup>、遺伝子機能の大規模解析やタンパク質の大量発現を行うことが出来る。研究に用いられる品種としては Bright Yellow 4 (BY4), Samsun NN, Xanti 等がある。名古屋大学遺伝子実験施設・杉浦グループによる葉緑体ゲノム配列決定<sup>7)</sup> には BY4 が用いられた。Petit Havana SR1 は省スペース (矮性) なので形質転換によく用いられている。

*N. tabacum* のゲノムは異質複二倍体 (2n=24, SSTT) であり、*N. sylvestris* (2n=12, SS) と *N. tomentosiformis* (2n=12, TT) を祖先としている。*N. sylvestris* が母系の親であり、*N. tabacum* の葉緑体はこちらから来ている。ゲノム構成の単純さから *N. sylvestris* もよく研究に用いられる。ちなみに、*N. tomentosiformis* は短日植物、*N. sylvestris* は長日植物、*N. tabacum* は概ね短日である。*N. sylvestris* は *N. tabacum* と同じ条件で形質転換を行える。無傷葉緑体の単離を行うには *N. tabacum* が適している。*N. sylvestris* からは調製可能ではあるが困難であり、また *N. tomentosiformis* から調製するのは非常に困難であり、著者らは成功したことはない。

1) 名古屋大学遺伝子実験施設

2) 京都府立大学大学院生命環境科学研究科

#### 7.2 培養細胞株

*N. tabacum* と *N. glutinosa* の細胞融合より得た光独立栄養株 NTG-P が確立されている<sup>8,9)</sup>。入手先は Dr. Jack M. Widholm (College of Agricultural, Consumer, and Environmental Sciences, University of Illinois at Urbana-Champaign, 1201 W Gregory Ave, Urbana, IL 61801, USA, email: widholm@illinois.edu).

#### 7.3 種子入手先

研究活動支援のためのタバコ種子ストックセンターのようなものは国内には見あたらないので、種子の入手に関しては研究者に直接コンタクトするのが一般的であると思われる。珍しい野生種などは下記の JT の研究所から入手可能である。また、海外の種苗会社等がインターネットで種子を販売している (Lehle Seeds <http://www.arabidopsis.com/> など)。

日本たばこ産業(株) 葉たばこ研究所  
〒323-0808 栃木県小山市大字出井1900  
tel: 0285-23-3142 (代表)

上記の研究所には、様々な品種、野生種のストックがある。譲渡して頂ける種子量の目安としては栽培種で 0.1 g、野生種で 0.01 g。譲渡条件に同意し申込書に記入の上譲渡依頼を行う。譲渡条件として「第三者への譲渡禁止」、「種子の増殖禁止」等の項目がある。申込書に記載されている譲渡条件が目的にそぐわない場合は JT と相談する。

タバコ種子の輸入は可能であり輸入時の検査は比較的簡便である。郵便封筒の外装に「tobacco seeds」と明記してあれば防疫所へ回され検査される。米国・欧州からの場合栽培検査は省略され、目視による検査（開封される）のみである場合が多いので、検査期間としては1～2日かかる程度である。一般的には輸出国と植物種の組合せで日本への輸入の可否や検査項目が決まる。詳細は植物防疫所のDB (<http://www.pps.go.jp/eximlist/>) を参照のこと。輸出国側の検査（国ごとに検査項目や栽培検査免除に必要な書類が異なる）もあるがここでは省略する。詳細は農林水産省植物防疫所 (<http://www.maff.go.jp/pps/>) にて確認して頂きたい。

## 7.4 播種と幼植物の育成

乾燥種子は半日程度明るい所で脱イオン水に吸水させ発芽時期を揃える。種子を懸濁しパスツールピペットを用いてパーミキュライトに播種する。目安は1000 cm<sup>2</sup> 当たり20～30 mg (300粒程度)。バットの底からパーミキュライトが水を吸い上げるようにする。播種後じょうろで上から水をやると種子がパーミキュライトの中に潜ってしまうので具合が悪い。ガラス板もしくはプラスチックラップを上蓋にし、芽生えが乾燥しないようにする。発芽後1週間程度で上蓋を外す。週に1～2度ハイポネックス(500～1000倍希釈)を与える。大きく育てる場合はメトロミックスとパーミキュライト(土でもよい)の入った鉢に植え替える。タバコは水のやり過ぎには強



図1：タバコ (*N. tabacum*, cv. BY4)  
人の背丈くらいまで大きくなる。SR1なら膝～腰丈程度で収まる。

いので神経質にならずに水やりをして大丈夫である。

### [栽培メモ]

- 種子の大きさは鞘によって異なる。一つの花序のなかで最初の頃の花には大きな鞘が付き、中の種子も丸々としているが、徐々に鞘も種子も小さくなっていく。小さい鉢で育てるとこの差は顕著である。
- 葉緑体を単離するには肥料を与えすぎないように育てる方が澱粉が貯まらず収率がよい。また、収穫前に3日程暗処理し澱粉を消化させるやり方もある。
- 栽培温度は25～30°C。
- 大麻とは異なりタバコの栽培自体は野外でも（もちろん温室でも）自由に行えるが、葉を乾燥して実用に供するのは違法とのこと（JT葉たばこ研究所からの情報による）。
- 巻きたばこや葉巻などから栽培中の植物へウイルスが感染する場合があるので気をつける。喫煙者は石鹸で手を洗ってから温室に入ること。
- タバコの病害にはアブラムシやコナジラミなどがあり、オルトラン（住友化学）やブルースカイ（バイエル）等の農薬で対応出来る。虫取りシート（三共消毒商事株式会社）を温室にぶら下げておくと害虫が発生した際に発見しやすい。病害と防除法については栽培マニュアル<sup>10)</sup>に詳しい記載がある。

## 7.5 種子の表面滅菌と培地への播種

1. 50 mlの使い捨てチューブなどを用いて、乾燥種子を70%エタノールに浸す。一分程度おいてエタノールを捨てる。
2. 2%次亜塩素酸ナトリウム（5%溶液なら脱イオン水で2.5倍に希釈する）を注いで15分置く。時々攪拌する。（以下クリーンベンチでの作業）
3. 滅菌水で5回以上すすぐ。
4. 寒天培地(1/2 x MS, 0.8%寒天, あるいは1 x MS, 3% sucrose, 0.8%寒天など)に播種する。

### [操作メモ]

- パーナーで焙ったハサミを用いて無菌的に鞘から取り出された種子は、表面滅菌処理を行わずにそのまま培地上に播種しても雑菌は生えない。
- 種子を「お茶パック」（トキワ工業）に入れてポリシーラーでシールすると扱いがラクになる。
- 枝の付け根のところには茎頂点があるので、そこを含むようにメスで切り取り、寒天培地（1 x MS, 3% su-



図2：無菌培養のタバコ  
マジェンタ容器にて培養。

crose, 0.8%寒天など。Magenta 容器(GA-7, Sigma)を用いると便利) に茎を挿しておけば、根や葉が発達してくる。

## 7.6 葉の表面滅菌

温室で育てた植物の葉を表面滅菌し組織培養することもある。パーティクルガンなどに用いる。

1. 葉を切り取りビーカーなどに入れる。
2. 70%エタノールを加え1分程度攪拌する。
3. エタノールを捨て、1%次亜塩素酸ナトリウムを加える
4. 15分間置く。時々攪拌する。
5. 滅菌水で5回以上すすぐ。
6. 寒天培地 (1/2 x MS, 0.8% Bactoagar あるいは1

x MS, 3% sucrose, 0.8% Bactoagar など)に裏側を上にして置く。寒天はピンセットなどで少し崩しておくと組織との接触面積を増やすことが出来る。

## 参考文献

- 1) A. Caplan, L. Herrera-Estrella, D. Inze, E. Van Haute, M. Van Montagu, J. Schell, & P. Zambryski. *Science* **222** (1983) P.815.
- 2) G. An, B. D. Watson, & C. C. Chiang, *Plant Physiol.* **81** (1986) P.301.
- 3) Z. Svab, P. Hajdukiewicz, & P. Maliga, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87** (1990) P.8526.
- 4) F. Ratcliff, A. M. Martin-Hernandez, & D. C. Baulcombe, *Plant J.* **25** (2001) P.237.
- 5) H. Hamamoto, Y. Sugiyama, N. Nakagawa, E. Hashida, Y. Matsunaga, S. Takemoto, Y. Watanabe, & Y. Okada, *Biotechnology (N Y)* **11** (1993) P.930.
- 6) J. A. Lindbo, *Plant Physiol.* **145** (2007) P.1232.
- 7) K. Shinozaki, M. Ohme, M. Tanaka, T. Wakasugi, N. Hayashida, T. Matsubayashi, N. Zaita, J. Chunwongse, J. Obokata, K. Yamaguchi-Shinozaki, C. Ohto, K. Torazawa, B. Y. Meng, M. Sugita, H. Deno, T. Kamogashira, K. Yamada, J. Kusuda, F. Takaiwa, A. Kato, N. Tohdoh, H. Shimada, & M. Sugiura, *EMBO J.* **5** (1986) P. 2043.
- 8) C. Xu, L. C. Blair, S. M. Rogers, Govindjee, & J. M. Widholm, *Plant Physiol.* **88** (1988) P.1297.
- 9) C. S. Goldstein, & J. M. Widholm, *Plant Physiol.* **94** (1990) P.1641.
- 10) 大堀和信, 黒田昭太郎 & 宇野良男, 「タバコ栽培の新技术」, 農文協, 1978.