

氏名 伊藤美千穂
 学位(専攻分野) 博士(薬学)
 学位記番号 論薬博第612号
 学位授与の日付 平成11年7月23日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位論文題目 日本産シソ属植物の類縁および化学分類に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 本多義昭 教授 井深俊郎 教授 藤井信孝

論文内容の要旨

シソ (*Perilla frutescens*) は、漢薬「紫蘇葉」の基原植物として日本薬局方に収載され、日本人には食用野菜としても馴染み深い。本植物の特有の芳香は含まれる精油成分 perillaldehyde によるが、すべてのシソに perillaldehyde が含まれているのではなく、実際には組成の異なる様々な精油型が存在する。これまでの遺伝学的研究によって、これらシソの多様な精油型発現には特有の遺伝的制御機構の存在が明らかとなっている。また、我が国には同属の野生種としてレモンエゴマとトラノオジソが知られているが、これらの精油成分についての研究は殆ど見るべきものがない。栽培種のシソやエゴマと野生種とは染色体数の点で倍数関係にあるが、シソとレモンエゴマとの F_1 植物の減数分裂中期の染色体の観察結果から、シソは二倍体の野生種が交雑と染色体倍加を経て成立した複二倍体種ではないかと考えられるに至っている。加えて近年、新たな野生種としてセトエゴマが発見されたことから、日本産シソ属についての分類に再検討の必要性が生じてきた。そこで本研究では、まず、それぞれの種の特徴を再検討し、種間の類縁関係を明らかにした。また、化学分類学的観点から精油成分を精査した。さらに、野生種各種を用いて人工複二倍体を作成し、それらの特徴的形質および精油成分について、交配親種との異同を比較検討した。

第1編：日本産シソ属植物の分類学的再検討と類縁関係

従来、日本産シソ属植物の分類については、野生種と栽培種を *P. frutescens* ただ1種にまとめ、それぞれを変種として分類する見方が一般的であったが、著者は各地からシソ属植物を収集・栽培し、さく葉標本との比較検討も加えて、この分類の再検討を行ない、種分類の指標となる形態学的特徴を明らかにし、栽培種1種1変種(シソ、エゴマ)と野生種3種(レモンエゴマ、トラノオジソ、セトエゴマ)に再分類した。また、遺伝学的実験からは、野生種3種間相互の交配で得た F_1 植物の稔性が非常に低いことから、野生種の各々が異なる遺伝子プールに属すること、また、栽培種のシソとエゴマについては、両者が同一の遺伝子プールに属することを明らかにした。次に、これらの4種1変種について、RFLP法(Restricted Fragment Length Polymorphism)ならびにRAPD法(Randomly Amplified Polymorphic DNA)を適用して類縁関係を調査したところ、RFLP分析からは、栽培種と野生種を識別し得るパターン、および、レモンエゴマとシソの染色体における相同性を裏付けるパターンなどを見出した。また、RAPD分析からは、算出された遺伝的距離の値を基にUPGMA(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetical Averages)によって類縁関係の分岐図を作成し、野生種3種の中では、レモンエゴマがシソ・エゴマに最も近縁であるということを示唆する結果を得た。これらの実験結果はいずれも、先の日本産シソ属植物の再分類を支持するものである。

第2編：日本産シソ属植物の精油成分分析

シソ属各種の精油成分に関する化学分類学的解析を目的として、GC分析を行なった。その結果、シソ・エゴマでは基本的精油型としてPA(perillaldehyde)、EK(elsholtziaketone)、PK(perillaketone)、PP(phenylpropanoid)の各型が存在するが、レモンエゴマではPA型を除く3型が、トラノオジソにはPK型とEK型、セトエゴマでは特異なSF(shisofuran)型のみが見い出された。また、新鮮葉の水蒸気蒸留画分をGC/MSにより分析したところ、1-octen-3-olと β -caryophylleneが、種(species)や精油型に無関係に、共通に含まれる成分として見い出され、linaloolもほぼすべての系

統に含まれることが判明した。Perillaldehyde 産生能を有するシソ・エゴマからは、limonene synthase の共産物と考えられる α -pinene や β -pinene のほか、limonene から perillaldehyde に至る経路の中間体とされる perillyl alcohol が特徴的に検出された。また、シソに含まれる青酸配糖体 purnasin の分解産物と推定される benzaldehyde、非環状セスキテルペンである nerolidol、フェノール誘導体の methyl salicylate など含まれていることが明かとなった。

第3編：日本産シソ属植物野生種の種間雑種と人工複二倍体作出

日本産シソ属野生種3種を互いに交雑させて得た雑種植物 (F_1) にコルヒチン処理を施して染色体を倍加させた人工複二倍体を作成し、これらの形態学的特徴と精油成分ならびに稔性の変化について検討した。その結果、 F_1 植物では両親野生種の間接的な形態となり、人工複二倍体では花や苞ならびに分果の大きさが各々約1.5倍に大型化した。また、 F_1 植物と複二倍体の稔性の比較からは、野生種3種の間ではレモンエゴマとトラノオジソとが近縁であることが示された。精油成分の産生については、 F_1 植物ではシソ・エゴマで明らかとなっている遺伝的優劣関係が適用できることが示され、複二倍体の精油成分組成は染色体倍加前の F_1 植物とほとんど差異がみられなかった。

以上、形態学的・遺伝学的解析と分子生物学的方法により、日本産シソ属植物を4種1変種に再分類し、それらの類縁関係を明らかにした。また、精油成分組成を精査し、それぞれの種 (species) がもつ生合成能の化学分類学的特徴を明らかにした。さらに、人工複二倍体を作成し、諸形質について検討した。これらの結果は、シソの起源解明や植物の進化と二次代謝経路の多様化に関する研究に基礎的知見を与え、新規生合成経路を有する薬用植物育種の可能性を示したものである。

論文審査の結果の要旨

漢薬「紫蘇葉」の基原植物として日本薬局方に収載されているシソ (*Perilla frutescens*) は、近年の研究から複二倍体種の可能性が強く示唆され、シソ (*Perilla*) 属植物の分類についても再検討が必要となってきている。本研究は、以下に述べるように、日本に栽培あるいは野生するシソ属植物を材料として、分類学的再検討を行い、それらの化学分類学的特徴について精査したものであり、加えて、野生種間の人工複二倍体を作成し、交配母種やシソとの比較検討を行って、諸形質の変化や類縁関係を明らかにしたものである。

従来、日本産シソ属植物は *P. frutescens* ただ1種とされ、野生種や栽培種はその変種として分類されることが一般的であった。著者は各地からシソ属植物を収集・栽培し、各地の標本館に所蔵されるさく葉標本との比較検討も加えて分類学的再検討を行ない、栽培種1種1変種 (シソ、エゴマ) と野生種3種 (レモンエゴマ、トラノオジソ、セトエゴマ) に分類した。また遺伝学的実験から、野生種3種が各々異なる遺伝子プールに属すること、栽培種のシソとエゴマは同一の遺伝子プールに属することも明らかにした。加えて、これら4種1変種について、RFLP法ならびにRAPD法を適用して類縁関係を調べ、野生種3種の中では、レモンエゴマがシソ・エゴマに最も近縁であることを明らかにした。

次いで、著者はシソ属植物の化学分類学的特徴を明らかにすべく、精油成分のGC分析を行なった。その結果、シソ・エゴマでみられる各種の精油型のうち、レモンエゴマではPA (perillaldehyde) 型を除く型を、トラノオジソにはPK (perillaketone) 型とEK (elsholtziaketone) 型を、セトエゴマでは特異なSF (shisofuran) 型のみを見出した。また、GC/MS分析による精査によって未解析成分多数を明らかにした。

さらに、野生種3種を互いに交雑させて雑種植物 (F_1) を得、さらにそれらのコルヒチン処理によって人工複二倍体を作成した。 F_1 植物ではいずれも両親野生種の間接的な形態となったが、人工複二倍体では一部器官の大型化を認めた。また稔性の比較からは、野生種3種の間ではレモンエゴマとトラノオジソとが近縁であること、精油成分については、シソ・エゴマと同様の産生機構と遺伝的優劣関係が適用できることを見出した。

以上、著者は日本産シソ属植物を4種1変種に再分類し、それらの類縁関係を明らかにした。また、それぞれの種 (species) がもつ精油成分に関する生合成能の化学分類学的特徴を明らかにした。さらに、雑種植物、人工複二倍体を作成し、諸形質の変化について明らかにした。これらの結果は、シソの起源解明や植物の進化と二次代謝経路の多様化に関する研究に基礎的知見を与え、新規生合成経路を有する薬用植物育種の可能性を示したものである。

よって、本論文は博士 (薬学) の論文として価値あるものと認める。

更に、平成11年5月19日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。