

氏 名	林 京 子 はやし きようこ
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	薬 博 第 150 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学位論文題目	Datura 培養組織、再分化植物の機能的変化ならびに半数性 培養株育成に関する研究

論文調査委員 (主 査)
教 授 木 島 正 夫 教 授 井 上 博 之 教 授 藤 田 栄 一

論 文 内 容 の 要 旨

医学上重要で頻用されている薬物、アトロピン、スコポラミンの安定した生産のための一手段として、従来植物組織培養法が検討されてきた。

著者は、培養組織におけるトロパンアルカロイド生成量の増大を目的として前駆物質等の投与効果を検討した。さらに、花粉を起源とする半数性培養細胞が、生化学的突然変異の検知とその利用による有用物質生産の向上を非常に容易にすることを考慮して、Datura の薬培養を行った。

1) トロパンアルカロイド代謝の調節

Datura 属植物の培養組織は、合成培地上で良好な増殖を示すが、総アルカロイド含量は植物の 1/10～1/100 のきわめて低い値であった。そのため、化学物質によるアルカロイド生成促進を試みた。先ず、アルカロイド前駆物質の効果を検討したところ、フェニルピルビン酸が最もアルカロイド生成促進効果を示し、フェニアラニンやトロパ酸はあまり効果がなかった。高濃度の前駆物質を投与すると著しい培養組織の生長抑制が見られる一方、アルカロイド生成機能の変化はあまり顕著ではなかった。

前駆物質投与による培養組織のアルカロイド生成量は植物のそれに比較してなお低かった。トロパ酸投与時に培養細胞内にトロパ酸が大量に蓄積することから、培養組織ではトロパ酸から hyoscyamine へのエステル化が抑制されているものと推察され、この抑制は器官再分化に伴って緩和された。

さらに、アミノ酸からアルカロイド生成に至る代謝過程に影響を及ぼすと考えられる種々の化学物質の効果を検討した。たんぱく合成阻害物質である streptomycin, 前駆物質のオルニチンおよびフェニアラニンと共に酵母エキスを投与すると、乾燥重量当り 0.1% 以上の高いアルカロイド定量値を得ることができた。酵母エキスを投与した時にのみ特異的に生成される Dragendorff 陽性の物質が存在することを確認した。この物質は酵母エキスの塩基性分画を投与する際に培養細胞中に見い出せるものであり、Vitali 反応で茶紫色を呈するがトロパンアルカロイドではなかった。

以上のことから、Datura 培養組織においては、前駆物質の投与でもトロパンアルカロイド生成を増進

しないような抑制機構が働いているものと考えられ、アルカロイドの大量生産には抜本的な検討——例えば変異株の選抜等が望ましい。

2) 半数性培養株の育成およびカルスからの再分化植物における生化学的、形態的变化について

Datura innoxia の薬培養を行ったところ、花粉起源と考えられる胚状体から半数性培養株を得ることができた。しかし継代培養中にカルスの染色体構成の変化が起こり、半数性細胞の頻度は著しく低下した。安定した半数性培養株を獲得する目的でクローニングを行ったところ、半数性細胞の選抜が可能であった。また天然オーキシンであるインドール酢酸 (IAA) を使用することによってカルス中の半数性細胞の頻度を維持することができた。半数性細胞の頻度の高い培養株は生化学的変異の誘導に利用できるものであり、高アルカロイド生産株の獲得にとって興味ある課題である。

花粉を起源とする培養株の中に、比較的アルカロイド含量の高い株を見い出した。また薬カルスから再分化した植物個体の多くに、アルカロイド生成機能、形態の変化が認められた。すなわち、アルカロイド含量が乾燥重量当り1%以上もある個体や、主アルカロイドである scopolamine, hyoscyamine が検出されずに scopolamine の分解産物とみられる aposcopolamine または scopoline が検出された個体が存在した。再分化植物の自殖子孫にはアルカロイド含量の異常は見い出されなかったが、アルカロイド組成の変異は第1代子孫にも見られ、第2代には消失していることがわかった。さらに、カルスから再分化した茎葉の中に、線形の葉やよじれた葉などの形態的異常をもつものが出現したが、とくに1培養系統に斑入り葉をもつ植物が多数再分化した。交配実験の結果、子孫には斑入り葉が見られなかったことから、斑入り現象は細胞質遺伝ではないことを確認した。しかし、斑入り葉から誘導したカルスについては、さらに斑入り植物を再分化する事実から、体細胞においてはこの変異は維持できるものと考えられる。

アルカロイド組成の変異および斑入りは突然変異とは考えられず、「細胞質の一時的変化であり、その誘導刺激がなくなれば発現性が減少する」と定義されている永続変異 (Dauermodifikation) の一種であると考えるのが適切であろう。

論文審査の結果の要旨

医薬品として重要な atropine, scopolamine の生産を確保するため、*Datura* 属、*Scopolia* 属植物などトロピン系アルカロイドを含有する植物の組織培養法による原料生産に関する研究が試みられてきて、いずれも組織培養化には成功し、トロピンアルカロイド生成に関する幾つかの基礎的研究がなされてきたが、未だ容易に大量生産に連るアルカロイド生産株を得がたい現状である。

林は *Datura* 属培養組織におけるトロパンアルカロイド生成量の増大を目的に前駆物質等の投与効果など代謝機能の人為的調節の可能性を追求したが、前駆物質の投与は特にその生成を増進せず、むしろ別に生成を抑制する機構が働くものと考えられ、生成機能を本質的に向上させるためには生化学的培養変異株の選抜を必要としてこれを試みた。

すなわち、*D. innoxia* の薬カルスから花粉起源と考えられる半数性培養株を得たが、継代培養中に2倍性細胞の頻度が増加するので、Cloning による人為的選抜や IAA 処理を試み、半数性細胞の頻度を増加させることに成功した。薬カルスは全般的に低いアルカロイド生成機能を示すが、1部には含量の高い株も

見出され、選抜の可能性をも見い出している。

また、葯カルスからの再分化植物はほとんど2倍体となったが、半数体も少数得られていて、その中にはアルカロイド含量の高い個体を見出したが、これは非遺伝的のものであった。また再分化植物にはアルカロイド組成に変異の見られるもの、あるいは斑入り葉をもつもの、茎葉に異常形のものをもつものなど、形態的な変異株を得ているが、交配実験の結果、アルカロイド組成の変異や斑入りは核内遺伝子の突然変異とは考えられず、永続変異の1種と考えられるものであった。

以上、生化学的培養株の選抜を試みるためにカルスから半数性培養株誘導に成功し、アルカロイド高含量株選抜の可能性を見出し、その他、幾つかの基礎的実験結果を得たことは今後の医薬品原料としてのトロパン系アルカロイド含有の培養組織開発に寄与したものである。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。