

2Ca-8

ニチニチソウ組織培養によるインドールアルカロイドの生産

- 平田収正, 蔵野憲秀, 宮本和久, 三浦喜温, 内田敬一*
伊神光男** (阪大・薬・薬, *旭硝子・研開, **日本
カーバイド工業・魚津研)

キョウチフトウ科 (*Apocynaceae*) の植物であるニチニチソウ (*Catharanthus roseus*) は、多くの生理活性を有するインドールアルカロイドを含有している。特に、vinblastine (VLB) と Vincristine は悪性リンパ腫や急性白血病の治療薬として重要であり、臨床の場でも広く用いられている。これらの二量体インドールアルカロイドは、植物体中の含量が著しく低く、また全化学合成も難しいことから非常に高価であり、植物組織培養による大量供給が期待される代表的な物質となっている。しかし多くの研究にもかかわらず、現在まで抗腫瘍性アルカロイドが培養細胞から検出された報告はない。

本研究においては、マダガスカル産ニチニチソウから誘導したカルス培養 (callus culture) 株及び茎葉器官培養 (multiple shoot culture) 株を材料として、VLB を中心としたインドールアルカロイドの生産に対する植物ホルモン、あるいは光照射などの培養条件の影響について検討した。

カルス培養株はニチニチソウの葉部切片から、茎葉器官培養株は子葉形成期の幼芽から得た。組織の誘導と維持は、種々の植物ホルモンを添加した Murashige-Skoog 培地を用い、カルス培養株は暗所で、茎葉器官培養株は光連続照射下で共に 25℃ で培養することによって行った。アルカロイドの定量は、VLB はラジオイムノアッセイによって、他の単量体インドールアルカロイドは高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって行った。

その結果、カルス培養株については、ナフタレン酢酸 1.0 mg/l とカイネチン 0.1 mg/l を組み合わせた条件で誘導した株において比較的高い VLB 生産能が得られたので、この条件を用いて大量に誘導したカルスからの VLB の単離・同定を試みた。アルカロイド粗抽出物から HPLC によって VLB を精製し、質量分析を行った結果、最終精製試料中に VLB が存在することが確認された。しかし、その生産量は親植物に比べ非常に低い値であった。

一方茎葉器官培養株においては、カルス培養株を大きく上回る VLB 生産能が得られ、継代培養による変化も認められなかった。また、VLB 生合成系の中間体である vindoline と catharanthine については親植物と同等以上の生産能が得られ、茎葉器官培養株はこれらのアルカロイドの優れた生産系であることが示唆された。さらに、これらのアルカロイドの生産能は培地中の植物ホルモンによって大きく影響を受け、特にベンシルアデニンを基本条件の 1.0 mg/l から 0.1 mg/l または無添加に変えた場合、有意に上昇した。また、照射光の強度及び光質によってもアルカロイド生産能が影響を受けることも確認された。