

## 2Cp-7

アカジソの懸濁培養細胞におけるカフェ酸誘導体の生成  
 石倉成行, 岩田昌幸, 三井清司\* (熊本大・理・生、  
 \* 医技短大部・生)

チリメンアカジソの芽生えからカルスを誘導し、2,4-Dとカイネチンを含むMitchellと Gildow (1975) の完全培地で懸濁培養系を確立した (Ishikura & Iwata, 1981)。この懸濁培養細胞には、葉に含まれるようなフラボノイド (Ishikura, 1981 参照) は検出されなかったが、微量のカフェ酸誘導体を生成することがわかった。この培養細胞の生成する芳香族成分を同定するとともに、数種の阻害剤を用いて培養細胞の生長と芳香族成分の生成について調べたので、その結果を報告する。

本研究で作成されたシソのカルス培養細胞には、クロマトグラフ法によれば少なくとも7種類のカフェ酸誘導体が含まれている。このうち、最も多量に存在する化合物CGは、酸およびアルカリで加水分解するとカフェ酸とグルコースを生じ、ジアゾメタンおよびジメチル硫酸との反応によって得られるメチル化合物を加水分解したところ、それぞれカフェ酸のジメチルエーテルおよび2,3,4-トリメチルグルコースを生じた。さらに、部分的加水分解による中間的分解産物として、1-カフェイルグルコースおよび6-カフェイルグルコースとみられるものが検出され、CGの吸収極大がカフェ酸のそれとほぼ一致するので、最終的にこの化合物は新規な1,6-ジカフェイルグルコースと推定される。培養細胞にはこのほか、少量ではあるがカフェ酸とイソクロロゲン酸が存在する。

シソのカルス懸濁培養系は典型的なシグモイドの生長曲線を示し、新鮮重量は培養11日目で最大値を示した。乾燥重量、タンパク質量ならびにカフェ酸量もこれに対応した変動を示し、11日目で最大値となった。しかし、アミノ態窒素量はそれらに比べて少し遅れて増加し、19日目に最大値を示した。また、培養細胞には遊離アミノ酸として、13種類の $\alpha$ -アミノ酸のほか、 $\gamma$ -アミノ酪酸が検出された。

次に、芳香族化合物生成の阻害剤と考えられるアミノオキシ酢酸(AOA)、 $\alpha$ -アミノオキシ- $\beta$ -フェニルプロピオン酸(AOPP)およびグリフォセイト(PMG)を培養細胞の対数増殖期に供与して、その影響を調べた。AOAの濃度が0.05 mMのときはほとんど影響がないものの、0.1 mMでは培養細胞の新鮮重量が対照の70%に低下し、カフェ酸量も30%にまで減少した。1 mMのときは生長が完全に阻害され、カフェ酸の生成も停滞した。0.1  $\mu$ M から 0.1 mM の AOPP の供与では、培養細胞の生長はさほど抑制されないが、カフェ酸量は試薬の濃度の増加につれて著しく減少し、1  $\mu$ M では対照の70%、0.01 mM で50%、0.1 mM で20%であった。また、AOPPの供与によって培養細胞の対照品で検出される14種類のアミノ酸のうち、フェニルアラニンのみが顕著に蓄積していることがわかった。したがって、AOPPは恐らくフェニルアラニンの脱アミノ反応を特異的に阻害するものとみられる。一方、0.1 mM の PMG は培養細胞の生長とタンパク質量にほとんど影響しないものの、カフェ酸量とアミノ態窒素量をそれぞれ対照の40%と20%にまで減少させ、さらに14種類の遊離アミノ酸のうち、チロシンとフェニルアラニンの両芳香族アミノ酸の生成を抑制していることがわかった。このことは、PMGがシキミ酸経路を阻害しているものとみられる。