



Title	タンジン (Salvia miltiorrhiza B.) 培養細胞によるジテルペン生成に関する研究
Author(s)	宮坂, 均
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35801">https://hdl.handle.net/11094/35801</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	宮	坂	均
学位の種類	薬	学	博 士
学位記番号	第	7 9 5 6	号
学位授与の日付	昭和 63 年 1 月 12 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
学位論文題目	タンジン ( <i>Salvia miltiorrhiza</i> B.) 培養細胞によるジテルペン生成に関する研究		
論文審査委員	(主査)		
	教授	三浦	喜温
	(副査)		
	教授	近藤	雅臣
	教授	岩田平太郎	教授 北川 勲

### 論文内容の要旨

タンジン (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) は中国に自生するシソ科 (Labiatae) の多年草であり、その根は中国では古来、漢薬「丹参」として活血を目的として常用され、神農本草経の上品に収載されている。また、近年は循環器疾患に対する有効性、抗菌、抗真菌活性、等の効果が認められ、中国では繁用される生薬のひとつである。

タンジンの根からは、ジテルペン系キノイドの赤色色素タンシノン類が多く単離同定されており、これらの色素が丹参の有効成分と考えられている。また、中国では丹参の需要の増加にともない、資源確保のためにタンジンを栽培化したり、タンシノン系の色素を多く含む他の *Salvia* 属植物をタンジンの代用品とする、等の研究がなされている。

一方、植物に含まれる有用二次代謝物の新たな供給源として、植物組織を *in vitro* で植物ホルモンの添加によってその分化を制御して無菌的に培養し、培養細胞に二次代謝物を生成させる試みが近年多くなされており、一部では実用化に成功した例もみられる。

本研究では、タンジン培養細胞を用いてタンシノン系の赤色色素を生成することを目的として、タンジンのカルスを誘導し、培養細胞からタンシノン類の一つである cryptotanshinone を単離同定した。また、培養細胞がタンシノン類と同骨格の無色のジテルペン ferruginol を多く生成していることを明らかにした。さらに、培養細胞による物質生成を高めることを目的として、培養細胞の二次代謝に関する基礎的な知見を得るとともに、その結果に基づいて、培養方法、培地成分、等の改善を試みた。

まず、培養細胞が未分化の状態で cryptotanshinone, ferruginol を生成することを確認した。次に、培養細胞の増殖と物質生成に関する基礎的な検討を行い、培養細胞が増殖に植物ホルモン 2,4-D を必

要とし、逆に2,4-Dは物質生成には阻害的に作用することを示した。また、回分培養（Batch culture）における物質生成のtime-courseを検討し、物質生成が培養の誘導期と定常期の細胞分裂が活発でない時期に起こることを示した。培養細胞は継代培養を続けると増殖に関する2,4-D要求性が消失し馴化したが、馴化しても物質生成のtime-courseは基本的に変化しなかった。

さらに、このような培養細胞の二次代謝に関する特性に基づいて、培養細胞によるcryptotanshinone, ferruginol生成の向上を培養方法の面から検討した。その結果、増殖系と物質生成系を分離し、増殖段階では細胞の増殖だけを目的として培養を行い、物質生成段階では培地成分の制限によって増殖を抑制して物質生成を行う、二段階培養法を確立した。また、培養細胞の物質生成培地中の成分要求性についても詳細に検討し、培養細胞が物質生成段階の初期で活発なタンパク合成などの代謝活性の高まりを必要としてはいるものの、全体としては培地成分の要求性は非常に低いことを明らかにした。この結果に基づいて、物質生成段階の初期での細胞の活性化を目的とした前培養（preculture）の効果について検討し、前培養によって物質生成が高められることを示した。

タンジン培養細胞による物質生成は、細胞の成分要求性に応じて培地を使い分けることによって高められたが、培地の使い分けにともなった細胞の移植の繁雑さを解消し、より効率的な培養方法を確立するために、固定化細胞の応用を検討した。固定化細胞を用いた培養は、(1) 非常に簡単な培地を用いて固定化細胞がcryptotanshinone生成に繰り返し利用できること、(2) 生成したcryptotanshinoneを効率良くしかも容易に回収できること、などの点から優れた培養方法であった。

## 論文の審査結果の要旨

タンジン（丹参）は漢方医療—とくに循環器系疾患の治療—には重要な薬物であり、その主成分であるクリプトタンシノンを始めとする色素成分は狭心症に有効であることが明らかにされている。本論文はクリプトタンシノンや近縁化合物のフェルギノールの獲得を目的に、成長した植物体からの生産でなく、細胞培養による大量生産を目指したものである。

まず、クリプトタンシノンを生成する細胞株を獲得し、細胞における二次代謝の特性を明らかにした。それを基に、細胞の増殖と色素の生成を分けた二段階培養法を確立するとともに、それぞれの培地の組成をも新規に作成した。さらに前培養による色素のより有効な生成をも示した。また生命体としての細胞を固定化細胞として繰り返しの利用を可能とする道をも開いたものである。これらの事実は特定の植物成分の大量生産には細胞培養の利用の可能性が高いことを示すと共に、実用化への問題点の解明に多くの手掛かりを与えるものである。

よって本論文は博士論文に値すると認められた。