

ショウガ科植物の組織培養による食品機能成分の 生産とその制御 (中間報告)

〔序 論〕

ショウガ (生姜) 学名 *Zingiber officinale* はショウガ目、ショウガ科の植物でインド、マレー方面の原産とされており古来より薬草、香辛料として世界中で広く利用されている。ショウガの食用としての価値は、その特有の香気と辛味であり、また肉や魚の生臭みを消す矯臭作用、腐敗を抑制する抗菌作用が代表的なものである。また加工されて漬物、菓子材料、清涼飲料、レトルト食品などにも広く用いられている。このように広い用途があり、日本では千葉、高知、愛知が主な産地であるが現在は東南アジアから多量に輸入されている。

一方、植物細胞培養に関する基礎研究の進展により植物の品種改良や有用な二次代謝産物の生産¹⁻³⁾へと応用、実用化の報告も見受けられるようになった。筆者らは、以上に述べたことを背景としてショウガの組織培養と取り組んでいる。これまでにショウガの組織培養に関する研究で、実際にカルス化に成功した例としてはハワイ大学の Hosoki & Sagawa (1977)⁴⁾の報告がある。ショウガの根茎を用いたカルスの誘導は微生物によるコンタミネーションを起こし易く、そのため良好なカルス細胞を得るのは困難である。したがって筆者らは根茎を発芽させ、その分裂組織からカルスの誘導を試みる必要があった。さらに今回の研究の目的は、培養細胞による食品機能成分を生産することであるからその目的に適した二次代謝を活発に行う培養細胞の選抜、育種および代謝系を

山 田 恭 正 (同志社女子大学家政学部講師)

活性化する培養方法、生産物の分離等に関する基礎研究を進めて行きたいと考えている。

〔実験方法〕

(1) カルスの誘導

供試植物：ショウガ (*Zingiber officinale*
Roscoe)

ウコン (*Curcuma longa* Linn)

参考植物

ダイコン (*Raphanus sativus* L.)

使用培地：Murashige-Skoog (MS) 培地を中心に White, B 5, L S の各培地を用いて基礎培地の検討を行い、あわせて最適ホルモン濃度および組み合わせを検討した。尚、オーキシンとしては 2,4-D, IAA, NAA を、サイトカイニンとしてはカイネチン、ゼアチンを使用した。

方 法：供試植物の消毒は70%エチルアルコールと10%ピューラックス液を常に用い、無菌操作はクリーンベンチ内で常法に従った。組織の採取はショウガ、ウコンとも根茎内の新鮮組織、あるいは根茎を発芽させ、その分裂組織を用いる方法を併用した。

(2) カルス細胞抽出物および原植物抽出物の HPLC による分析

継代培養したショウガのカルス4.216 g をメタノール300mlに浸漬し約1時間かくはん後吸引口過をして細胞残さとロ液に分離した。(図1)こ

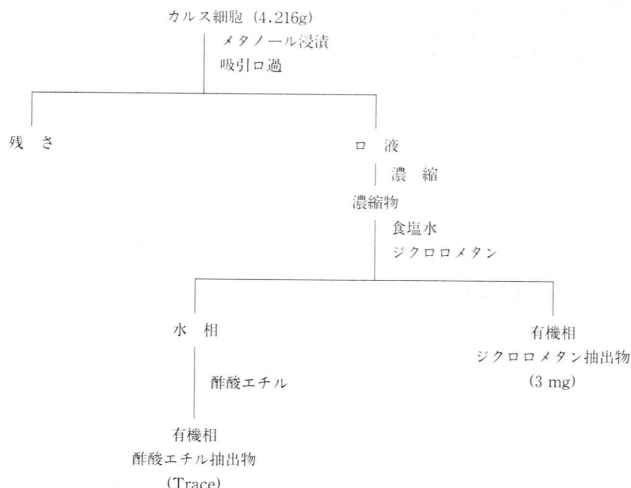


図1 カルス細胞からの抽出方法

のロ液を濃縮して得られる水溶液に食塩水 20ml を加えジクロロメタン 20ml で 3 回抽出した。得られた有機相を濃縮して油状物 3 mg を得、HPLC 分析のサンプルに供した。水相はさらに酢酸エチルで抽出を行ったが抽出物は、ほとんど得られなかった。原植物の抽出方法も上記に準じて行った。

HPLC の分析条件

機種	Shimadzu LC-6A
カラム	YMC-Pack, A-312, S-5 120A, ODS タイプ 6×150mm
展開溶媒	メタノール：水=80：20
流速	1.0 ^{ml} / _{min}

〔結果および考察〕

(1) カルスの誘導および培養

根茎組織を直接用いる場合は、100% 近く雑菌に汚染されており、一旦発芽させ、その分裂組織を用いる方法が最も効率のよいことが明らかになった。

培養結果

(1) ショウガの場合、今回の実験では MS 培地が適しており、2,4-D ~ カイネチン、又は I AA ~ カイネチンを含む MS が良好であった。White, LS, B 5 では、顕著な結果が得られていない。

ショウガの場合は比較研究に用いたダイコンなどからみると、カルス増殖は極めて遅いと云える。

写真 1、および 2 に示すカルス塊より、継代培養によって選抜した Z-89 株は MS 培地上で速やかに増殖する系統で、さらに細胞育種を重ねることにより、今後の機能成分の代謝生理研究の好材料となろう。本系統の適温は 30℃ 付近である。

培養細胞の一部では不定根の分化が認められているが今後の詳細な研究が必要である。

カルスの細胞をサフランin で染色し、検討したところ細胞内に油状の物質が確認され

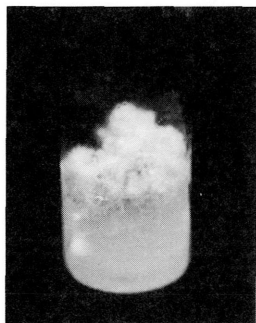


写真 1

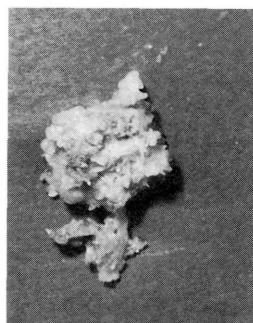


写真 2

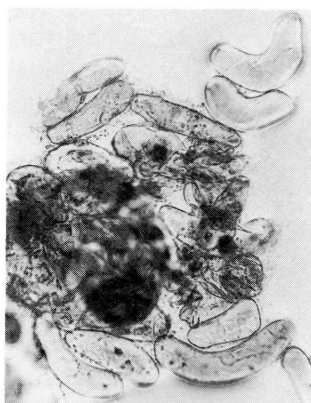


写真 3 a

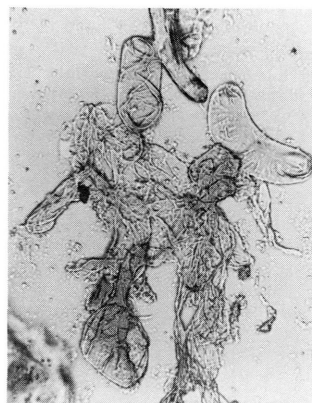


写真 3 b

た。(写真 3 a, 3 b)

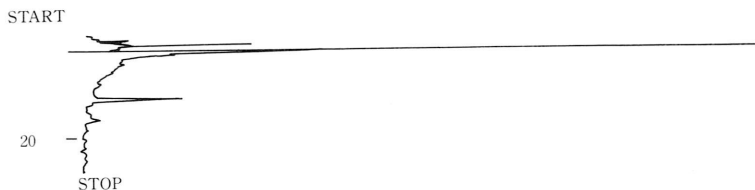
今回の研究では、増殖力のある細胞群の選抜に時間を要したため、細胞化学的研究あるいは組織化学的研究の詳細が不足しているが、Z-89 系統の確保により今後、上記の研究並びに、これらの細胞の代謝生理及び機能成分の分析等が可能になるものと思われる。

- (2) ウコン：ショウガ科の植物で、クルクミン等の生薬成分含有で価値のあるウコンを、沖縄及び和歌山より入手し、ショウガの場合と同様の手法を用いてカルス誘導を試みている

が、現在のところ、いずれの培養法、培地を用いても成功に到っていないので、さらに、培養条件の再検討を行うため、現在、温室中で栽培を行っている。

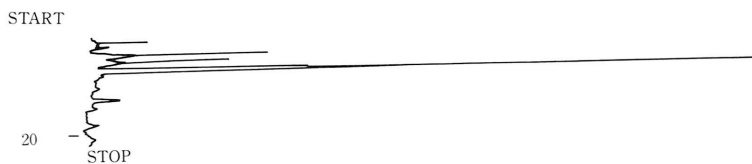
(2) 抽出物の HPLC による分析結果

カルス細胞抽出物および原植物抽出物の HPLC によるクロマトグラム (図 2, 3) を比べて見ると、両者のパターンは異なっておりカルス細胞抽出物に見出される保持時間 3.398 分のメインピークは原植物中には見られなかった。この結果から原植物に含まれるバニリルケトン系の二次代謝産



CHROMATOGRAM PKNO	5 TIME	MEMORIZED AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.973	2558			0.977	
2	3.398	146507			55.9643	
3	3.748	31839	V		12.1623	
4	4.067	30242	V		11.5521	
5	4.715	3305	V		1.2623	
6	5.94	972			0.3713	
7	12.683	31769			12.1356	
8	15.56	2646			1.0108	
9	16.828	7973	V		3.0457	
10	22.268	1350			0.5156	
11	27.762	2625			1.0029	
TOTAL		261787			100	

図2 カルス細胞抽出物の HPLC によるクロマトグラム



CHROMATOGRAM PKNO	4 TIME	MEMORIZED AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	3.3	2840			0.9231	
2	3.53	1951	V		0.6343	
3	3.757	28591	V		9.2937	
4	4.185	757	V		0.2461	
5	4.27	269	V		0.0874	
6	4.648	984			0.32	
7	5.165	26355	V		8.5671	
8	6.508	37963			12.3404	
9	6.92	191720	V		62.3208	
10	12.55	13320			4.3299	
11	16.983	258			0.084	
12	17.53	2625	V		0.8532	
TOTAL		307634			100	

図3 原植物抽出物の HPLC によるクロマトグラム

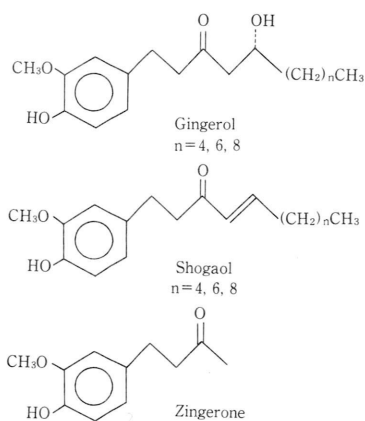


図4 パニリルケトン同族体の化学構造

物(図4)の生合成に関与する成分が蓄積されている可能性もある。今後このメインピークに相等する成分を大量に生産させるための培養条件を探

求し、その化学構造を明らかにすることは二次代謝のメカニズムを解明する上でも興味深い問題であると考えている。その為にカルス細胞の成長速度を高め、かつ大量培養が可能な液体培養法の確立が重要である。

終わりに本研究を遂行するにあたり、研究助成金を賜りました浦上食品・食文化振興財団および関係各位の皆様方に、御礼申し上げます。

貴財団の益々の御発展をお祈り申し上げます。

文 献

- 1) Y. Fujita, S. Takahashi and Y. Yamada, *Agric. Biol. Chem.*, **49** (6), 1755 (1985).
- 2) 藤田泰宏, 菅 忠三, 松原浩一, 原 康弘, 日本農芸化学会誌 **60** (10), 849 (1986).
- 3) K. Ushiyama and T. Furuya: VI International Congress of Plant tissue and Cell Culture (Minnesota), (1986).
- 4) T. Hosoki and Y. Sagawa, *Hort Science.*, **12** (5), 451 (1977).

Production of the physiologically functional substances in the callus
cells of *Zingiber officinale* Roscoe and its allied species.

Yasumasa Yamada (Department of Food Science, Doshisha Womens' College of Liberal Arts)

The Physiologically functional substances have been examined both in the ginger rhizomes and in the callus cells derived from the rhizome. Explants from the bud tips of ginger sterilized with 70% ethyl alcohol and purelox were inoculated on Murashige-Skoog medium supplemented with 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (1mg/l) and kinetine (0.2mg/l), and incubated at 30°C in the dark.

Among callus cells derived from the explants, Z-89 strain which is growing rapidly will be the good source for further analytical studies.

HPLC of the extracts from both callus materials and fresh ginger rhizome was carried out using a Shimadzu LC-6A equipped with a YMC-packed column (ODS type) eluted with 20 % water in methanol.

Chromatogram of the extracts from the callus materials indicated the presence of the compounds detected at 254nm, which will suggest the necessity for the further investigation on the secondary metabolism in the callus cells.