

# 植物の培養細胞を用いてテルペンの生合成を知る

北海道大学大学院農学研究院応用生命科学分野  
鍋田憲助

私は、3つの大学に勤め、また、所属する研究室名も食品化学、林産化学、生物有機化学と変わった。それぞれの研究室で研究・教育の目標が大きくことなり、その目標に合わせて研究を変えてきた。その中で、自分が多少の努力と時間を払って研究してきたテーマについてご紹介したい。「植物の培養細胞を用いたテルペンの生合成研究」である。モノテルペンやセスキテルペンは香草に多く含まれ、食品フレーバー成分としても重要である。また、樹木を特徴づける香物質やフィトンチッドの本体も揮発性のテルペンである。テルペンが酵素の活性中心でアキラルな直鎖状化合物から、光学活性の多環性の化合物に環化してゆくメカニズムの解明は、生物有機化学分野での大きな研究テーマでもあった。従って、植物の培養細胞を用いたテルペンの生合成研究は、食品化学→林産化学→生物有機化学と渡り歩いてきた私にとっては唯一持続的に遂行可能な研究課題でもあった。

1980年代前半、植物細胞培養技術は、田畑に頼らず、また、天候に影響されずに有用物質の生産を可能にする夢の技術として注目され、世界中の大学や企業によって競って研究が進められた。そのターゲットとして香料も入っていたが、やがてその生産は最も難しいものであることが判った。その理由の一つは、維管束植物における香り物質とりわけモノテルペンやセスキテルペンの合成される部位にある。維管束植物においては、低級テルペン合成は、葉基部の分泌細胞やその近傍の細胞など特殊化した細胞に偏在している。脱分化した細胞培養では、このような分化した細胞がほとんど存在しないので、当然のことながら、低級テルペンもほとんど合成されない。第二の理由は、香が生合成起源の異なる、極めて多くの成分の量的なバランスの

上に成り立つ点にある。植物培養細胞で、量的バランスを保ちつつ、物質を作るのは極めて難しい。著者は香草の一種であるシソ科の仲間や、精油量の極めて多い針葉樹からの培養細胞を用いてテルペン生成を試みたが、テルペン生成量は極端に低く（培養細胞新鮮重に対して0.001%レベル）また、母植物と全く異なる化合物が生成した。例えば、ニホンカラマツ (*Larix leptolepsis*) からの揮発成分量は成熟した葉では新鮮重当たり 0.3%、実生の葉：0.03%、実生から誘導したカルス：0.003%であった。かつ、成熟した葉や実生の葉からの揮発成分の構成成分は主にモノテルペンであるのに対して、カルスでは大部分が直鎖状の化合物であり、テルペンとしては微量のセスキテルペンが検出されたのみであった。カルスの生産するセスキテルペンでは(+)- $\alpha$ -セドレンが同定されたが、通常維管束植物に見られ $\alpha$ -セドレンは(-)-型である(図1)。

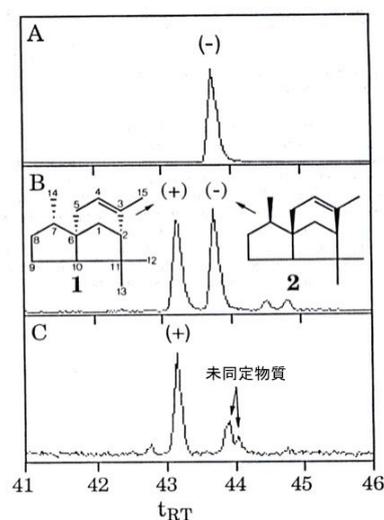


図1 キラルなキャピラリーカラムを用いた $\alpha$ -セドレンのTICクロマトグラム。(A) 標品(+)-体、(B)ラセミ体、(C)ニホンカラマツカルスからの揮発成分

脱分化した培養細胞では、合成に必要な組織やオルガネラが失われる結果、母植物に認められるテルペン生成は起こらず、母植物では潜在していたマイナーな代謝系が顕在化してきたと考えられる（図2に環化過程を示した）。

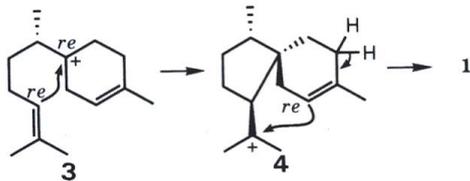


図2 (+)- $\alpha$ -セドレンの生成機構。  
3: ビサボリルカチオン

蘚苔類は、維管束植物に較べるとサイズも小さく人目につきにくいせいか、化学的な分析も遅れていた。蘚苔類の間では、タイ類が特異的にモノテルペンやセスキテルペンを生成・蓄積する。その中には香料として、あるいは生薬的に利用できそうな化合物も含まれる。コケ植物からも液体培養細胞が誘導されているが、維管束植物の培養細胞とは様々な点で異なる。コケ培養細胞は、葉緑体を細胞内に含み、光独立栄養的に増殖できる。また、母植物同様、細胞内にコケ特有の油体(oil body)を含み、モノテルペンやセスキテルペンなどの細胞毒を示す物質を蓄積できる。従って、コケ培養細胞は維管束植物の分泌細胞のような特殊化した細胞でなくても、テルペン類を合成・蓄積できる。事実、コケ培養細胞の生成するテルペンは量的にも質的にも母植物のそれと変わらない。

コケの生成するテルペンは維管束植物からのテルペンと異なる点はいくつかある。例えば、コケ植物からのテルペンはしばしば、維管束植物の相当する化合物と逆の絶対配置を持つものがある。また、コケ植物しかみられない irregular で複雑な炭素骨格を持つテルペンや高度に酸素化されたテルペンが存在する。これらの化合物が生体内でどのような過程を経て生

成するかは、生物有機化学的な好奇心を呼び覚まし、探究心を奮い立たせる。

維管束植物では植物体を用いたテルペン生合成研究は主に、放射性同位体で標識した前駆体を用いて行われてきた。標識した前駆体は極端に希釈されてしまうため、核磁気共鳴装置や質量分析装置では標識位置が決定できないからである。一方、培養細胞では投与した前駆体が効率良く生成物に取り込まれるため、取り込み位置を質量分析計で決定できる。欠点は微量しか化合物を生成しないので、核磁気共鳴装置が利用できないことである。コケ植物では、前駆体の標識の希釈も少なく、また、生成物も核磁気共鳴装置で分析可能な量を得ることができる。従って、標識位置が正確に決定できるのでテルペン生合成における環化過程をより厳密に考察できる。また、その間の水素やメチル基の転移なども、正確に観察できる。コケ培養細胞に重水素や炭素-13 で標識したメバロン酸を投与して、多くの複雑な炭素骨格や高度に酸化したモノテルペンやセスキテルペンの生合成過程を明らかにすることができた。また、テルペン生合成における細胞質でのメバロン酸経路とプラスチド内での非メバロン酸経路の関与や両者間のクロストークも証明することができた。

コケ培養細胞には高度に酸素化されたテルペンが多く含まれる。細胞内に多くのペルオキシダーゼやラッカーゼなどの酸化酵素と酸素活性種が存在するが、テルペンは酸素活性種の毒からコケ細胞を守るために酸素化されるとも考えられる。コケ培養細胞にグアイアシル骨格や p-OH アルキルベンゼン骨格を持つリグニンモデル化合物を加えると細胞外へのペルオキシダーゼ活性の分泌が促進され、細胞外でリグニンモデル化合物は分解される。コケが仮根を通して、酵素や低分子化合物を輸送するという科学的な証拠は何もないが、コケが自らの死によって酸化酵素を樹皮上に拡散させ、樹皮の硬い表面を穿ちながら、自ら繁殖していくということが、実際の生態系でおこらないのだろうかと思えるこのごろである。