

## 植物培養細胞中の微量金属含量について

山崎 壮\*・義平邦利\*\*

高等植物のカルス、不定芽、不定根、形質転換細胞などを組織培養することにより、植物の二次代謝産物を大量生産する試みが近年盛んになされてきている。すでにムラサキの二次代謝産物シコニンが組織培養によって生産され、口紅色素の原料として企業化されている。採取した植物から抽出する方法に代わり、培養細胞をタンクで大量培養して目的の成分を得る技術を確立することは、生産性を飛躍的に向上させ、かつ、自然環境に依存しない植物生産系を確立することになる。そこで、これらの実用化については、医薬品分野に次いで付加価値が比較的高く、しかも市場が広い食品添加物など食品分野での実用化が注目されている。

一方、こうした技術を食品分野に応用した場合の安全性を考える時には、親植物と組織培養物との二次代謝産物組成の比較、培地に添加された植物ホルモンや微量金属などの培養物への移行・残留などについて検討する必要がある。そこで著者らは、下村講一郎博士（国立衛生試験所農業用植物栽培試験場）、小関良宏博士（東大・教養・生物）の協力を得てこれらの問題について食品衛生の見地から研究を始めた。培養細胞中の微量金属量についての予試験の結果、若干のデータを得たので述べたい。

植物組織培養に用いる培地中の無機成分のうち、Fe, Mn, Cu, Mo, Co, Clなどの微量元素は、培養細胞の増殖速度、二次代謝産物生産能との関連で検討がなされてきた。たとえば、シコニン生産の場合のように  $Cu^{2+}$  濃度の高い培地を使用している例<sup>1)</sup>もある。ところが、培地中の微量金属が培養細胞中にどれだけ取り込まれているかについてはほとんど報告がない。そこで著者らは、食用ニンジンとアカネの培養細胞について微量金属（亜鉛、マンガン、銅、鉄）量を測定した。

\* Takeshi YAMAZAKI and \*\* Kunitoshi YOSHIHIRA : Contents of Some Trace Metals in Cultured Plant Tissues

国立衛生試験所食品添加物部 (〒158 東京都世田谷区上用賀 1-18-1)

Division of Food Additives, National Institute of Hygienic Sciences (18-1 Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo, 158 Japan)

培養細胞としては、小関良宏博士の確立したニンジン (*Daucus carota* L. c. v. *kurodagosun*) カルス「C 2」<sup>2)</sup>、その UV 変異株で β-カロテン生産性のカルス「Re 2」、および、下村講一郎博士、小関良宏博士の確立したアカネ (*Rubia akane* NAKAI) の液体培養細胞を供与いただいた。培養細胞 2~10 g (湿重量) を乾式灰化した後、金属をジエチルジチオカルバミン酸とキレートさせて酢酸ブチルで抽出し、フレーム原子吸光光度計で金属を定量した。

ニンジンカルスを  $0.5 \mu M$  2,4-D 添加の Lin & Staba の改変培地<sup>2)</sup> (ジェランガム濃度 0.2%) で 25°C、暗黒下、1か月培養した時の培養細胞中の亜鉛、マンガン、銅、鉄の含量を第1表に示す。カルス中の含量 ( $\mu g/g$  湿重量) は培地中の濃度 ( $\mu g/ml$ ) と比べて、亜鉛で 4.6 ~4.7 倍、マンガンで 1.5~1.6 倍、銅で 72~108 倍、鉄で 2.5 倍であった。銅が非常に高率に取り込まれていた。培養に用いたのと同一原料のニンジンは得られないので、市販ニンジンについて分析を行った結果を第1表に参考に示したが、カルス中の各金属含量はこれとは異なっていた。

アカネの液体培養細胞を Linsmaier-Skoog (LS) 培地<sup>3)</sup> で、25°C、通気量 3 l/min で 10 日間培養した時の金属含量を調べた。LS 培地に  $5 \mu M$  2,4-D と  $0.1 \mu M$  kinetin を添加した場合 (試料 A) と、 $0.5 \mu M$   $\alpha$ -naphthylacetic

第1表 ニンジンカルス、市販ニンジン中の微量金属量

試 料	微量金属 ( $\mu g/g$ 湿重量)			
	Zn	Mn	Cu	Fe
カルス C 2	4.3	3.5	0.18	13.9
カルス Re 2	4.2	3.7	0.27	14.0
市販ニンジン	3.0	0.61	1.1	2.4
市販ニンジン	2.7	0.42	0.96	1.9
	Zn	Mn	Cu	Fe
Lin & Staba の改変培地中の金属含量 <sup>2)</sup> ( $\mu g/ml$ )	0.92	2.32	0.0025	5.58

acid (NAA) を添加した場合 (試料B) とで比較した (第2表)。試料Bの方が4金属とも含量が高く、また、4金属の合計量に対する各金属の含量比にも差が見られた。培地中の金属濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) と比べて、試料 A, B 中の含量 ( $\mu\text{g}/\text{g}$  湿重量) はそれぞれ、亜鉛で13倍、25倍、マンガンで5倍、6倍、銅で173倍、882倍、鉄で8倍、14倍であった。この事例でも銅が非常に高率に取り込まれていた。

以上の結果、予試験ではあるが、培地から各種金属、特に銅が高率に取り込まれることがわかった。また、培地中の植物ホルモンの種類、量は培養細胞の成長や物質生産に大きな影響を与えるが、培養細胞への金属取り込みにも影響が及んでいるものと推察され、今後検討していく必要がある。

今回測定した微量元素の亜鉛、マンガン、銅、鉄は、動植物双方に必須元素であるが、大量摂取すると毒性を示すので、食品衛生上問題がある。植物組織培養法を食品分野に応用するには、組織培養物、そこからの粗抽出物、さらに精製して得た特定成分などの製品について検討し、精製度と微量元素量との関係を明らかにして安全

第2表 アカネの液体培養細胞中の微量元素量

試料	培地中の 植物ホルモン	微量元素 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)			
		Zn	Mn	Cu	Fe
A	2, 4-D, kinetin	26.1	25.6	1.1	44.4
B	NAA	48.6	30.7	5.6	76.1
		Zn	Mn	Cu	Fe
LS 培地中の金属含 量 <sup>3)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )		1.96	5.05	0.00635	5.58

性の確立をはかる必要がある。また今後、同一品種について栽培株と各種条件下での組織培養物を用いて、さらに比較検討を加えていきたい。

(1987年6月10日受理)

## 文 献

- 藤田泰宏, 森本悌次郎, 1985. 細胞工学, 4: 405-411.
- Ozeki, Y., A. Komamine, 1981. Physiol. Plant., 53: 570-577.
- Linsmaier, E. M., F. Skoog, 1965. Physiol. Plant., 18: 100-127.