

論 文

キャラボク新芽の伸長とタキサン類の生産に及ぼすカウレンの微生物変換により生成したジベレリンの投与の影響*

柳田 高志**, 伊藤 和貴**, 橘 燐郎**

Effect of addition of gibberellins produced by microbial conversion of kaurene on elongation of kyaraboku sprouts and production of taxanes*

Takashi YANAGIDA**, Kazutaka ITOH**, and Sanro TACHIBANA**

Summary: Endogenous gibberellins in young sprouts of Kyaraboku (*Taxus cuspidata* var. *nana* Rehd.) were investigated for promotion of growth of Kyaraboku trees by the combined use of biologically active tests. Gibberellins-A₃ (GA₃) and -A₄ (GA₄) were found to be existed in $2.84 \times 10^{-5}\%$ and $1.71 \times 10^{-5}\%$ of Kyaraboku sprouts, respectively. The effects of addition of gibberellins produced by microbial conversion of kaurene with *Gibberella fujikuroi* to Kyaraboku stems on elongation of the sprouts and promotion of production of taxanes (taxol, cephalomanine, baccatin III and 10-deacetyl baccatin III) in the sprouts were also investigated for utilization of gibberellins produced by the microbial conversion.

The elongation of kyaraboku sprouts was found when the fractions containing gibberellins produced by the microbial conversion, F1 fraction containing GA₇, iso-GA₇ and GA₄ and F2 fraction containing GA₃ and iso-GA₃ were added to Kyaraboku stems. Especially, the mixture of F1 and F2 fraction promoted the elongation of the sprouts in comparison with that of addition of each GA₃ and GA₄.

The amounts of production of taxol, a strong anti-carcinogenic agent, were increased to 1.09 and 1.07 times to those of the control by addition of the F2 fraction and the mixture of F1 and F2 fraction, respectively. Furthermore, the amounts of production of baccatin III in the sprouts, a biogenetic precursor of taxol, were increased to 1.42 times to that of the control when GA₃

* Received October 30, 1997. 本報告の一部は第47回日本木材学会大会（1997年4月、高知）で発表した。

** 森林資源利用化学研究室 Laboratory of Chemistry and Biotechnology for Utilization of Forest Resources

was added to the stems.

From the results obtained here, it was found that elongation of Kyaraboku sprouts as well as production of taxanes in the sprouts were promoted by addition of gibberellins produced by the microbial conversion to Kyaraboku syems.

要 旨 キャラボクの成長を促進させるため、生物活性試験を併用しながらキャラボク (*Taxus cuspidata var. nana* Rehd.) 新芽中の内生ジベレリン類を調べた。そして、キャラボク新芽中にジベレリン-A₃ (GA₃)、ジベレリン-A₄ (GA₄) が各々新芽生重に対して $2.84 \times 10^{-5}\%$, $1.71 \times 10^{-5}\%$ 存在することを見いたした。また、カウレンの微生物変換により生成したジベレリンの有効利用をはかるため、カウレンの微生物変換により生成したジベレリンをキャラボクの茎に投与し、その新芽の伸長と新芽中のタキサン類の生産に及ぼす影響を調べた。

カウレンの微生物変換により生成したジベレリンを含むフラクション、F 1 フラクション (GA₇, iso-GA₇, GA₄ を含む) と F 2 フラクション (GA₃ 及び iso-GA₃ を含む) をキャラボクに投与した場合、新芽の伸長が認められた。特に、F 1 と F 2 の混合物は GA₃ や GA₄ を投与した場合よりも新芽の伸長を促進した。また、F 2 フラクション及び F 1 と F 2 の混合物をキャラボクに投与した場合、強力な抗ガン性物質であるタキソールの生産量が各々 1.09 倍、1.07 倍増加した。さらに、GA₃ を投与した場合、タキソールの前駆体であるバカチニンⅢの生産量が 1.42 倍増加した。カウレンの微生物変換により生成したジベレリンのキャラボクへの投与により、キャラボク新芽を伸長させるばかりでなくタキソールの生産量も増加させることができることが分かった。

1. 緒 言

ジベレリンは、伸長促進効果、開花促進作用、单為結実の誘発、加水分解酵素の賦活化等の生理活性を有する植物ホルモンの一種で¹⁻⁶⁾、現在 104 種類のジベレリンが知られている。

先にスギ (*Cryptomeria japonica*) 針葉中の環状ジテルペン炭化水素の一種、カウレンの *Gibberella fujikuroi* 菌を用いた微生物変換により、ジベレリンが生産できることを報告⁷⁻⁹⁾すると共に、この微生物変換により生成されるジベレリン類を調べた¹⁰⁾。また、*G. fujikuroi* の細胞融合による高基質変換能を有する融合菌の作出についても検討し、親株よりも基質変換能が高い融合菌を作出できることも報告した¹¹⁾。

近年、イチイ属樹木中の抗ガン性物質、タキソールに関心がもたれている¹²⁾。タキソールは乳ガン、胃ガン、卵巣ガンに対して強力な抗ガン作用を示し、その実用化のための研究が世界中で行われている。しかし、イチイ属樹木中のタキソール含量は低く、イチイ属樹木の成長も遅く、しかも資源量も限られている。イチイ属樹木の増殖に関する研究は少なく、その樹木中のジベレリン類については殆ど研究されていない。イチイ属樹木中のジベレリン類が明らかにされれば、これらの樹木の成長を促進させることも可能になるものと考えられる。また、この微生物変換により生成したジベレリンをイチイ属樹木に添加することにより、イチイ属樹木中のタキソール及びその前駆体（バカチニンⅢ、10-デアセチルバカチニンⅢ等）の生産量が増加するならば、微生物変換により生成したジベレリンの有効利用にも資するものと考えられる。

そこで、本研究では、まず始めにイチイ属樹木、キャラボク中のジベレリン量と生物活性を調べる

と共に、カウレンの微生物変換により生成したジベレリンをキャラボクに投与し、その新芽の伸長とキャラボク中のタキサン類（タキソール及びその前駆体）の生産性に及ぼす効果を調べた。

2. 実験

2.1 キャラボクからのジベレリンフラクションの分離及び生物活性

2.1.1 キャラボクからのジベレリンフラクションの分離⁶⁾

Fig. 1 にキャラボク新芽からのジベレリンフラクションの分離スキームを示した。まず、キャラボクの新芽（5.0Kg）を細かく切斷した後、80%メタノール（15L）で10日間、室温で2回抽出した。抽出液を減圧濃縮した後、濃縮液に水を加えリン酸緩衝液でpH 7.0に調整した。これに1.2倍量のn-ヘキサンを加え3回抽出してn-ヘキサン可溶部を除いた。その後、水層を希塩酸でpH 3.0に調整し、1.2倍量の酢酸エチルを加え4回抽出した。得られた酢酸エチル可溶部に1.2倍量の5%炭酸水素

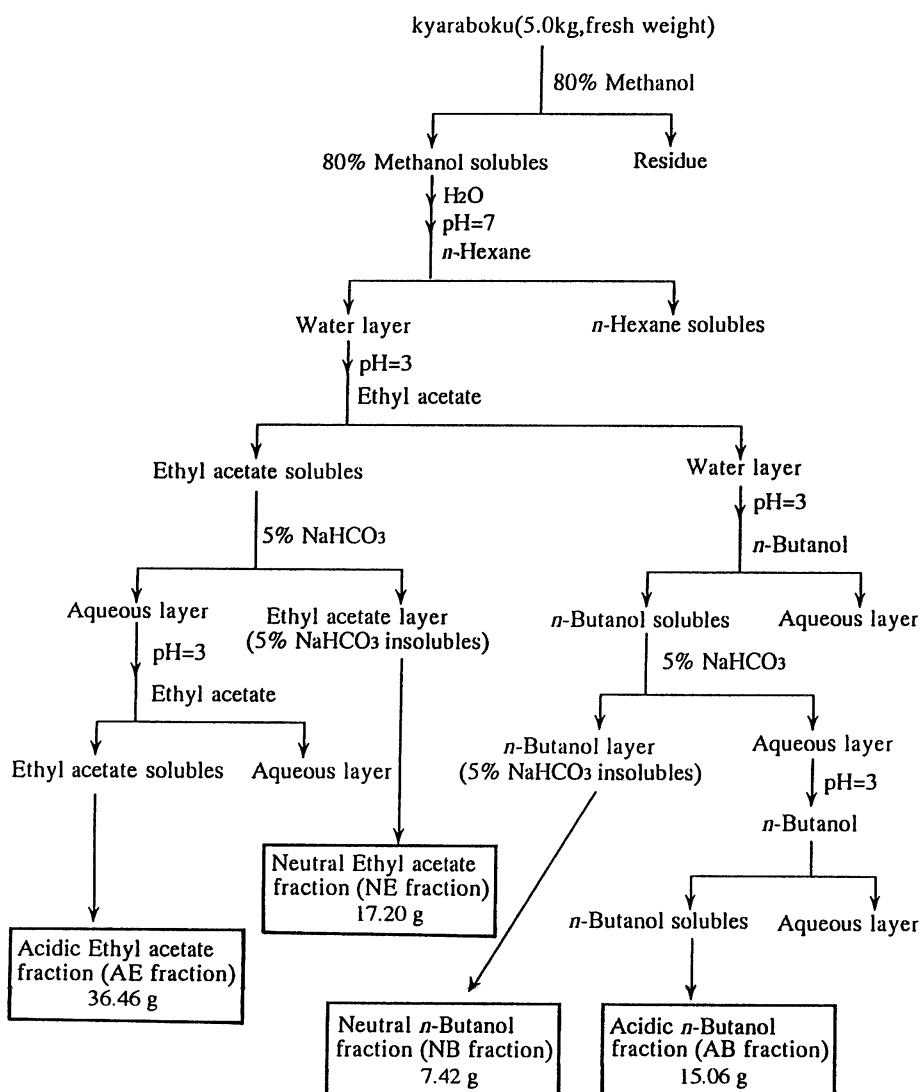


Fig. 1. Separation scheme of gibberellins in the sprouts of Kyaraboku (*Taxus cuspidata* var. *nana* Rehd.).

ナトリウム水溶液を加えて3回抽出した。得られた5%炭酸水素ナトリウム不溶部（酢酸エチル層）は無水硫酸ナトリウムで一晩乾燥した後、溶媒を留去して酢酸エチル可溶部の中性部（NEフラクション）(17.2g)を得た。更に、水層を希塩酸で注意深くpH3.0に調整した後、1.2倍量の酢酸エチルを加え4回抽出した。酢酸エチル層は無水硫酸ナトリウムで一晩乾燥した後、溶媒を留去して酢酸エチル可溶部の酸性部（AEフラクション）(31.46g)を得た。

一方、酢酸エチル可溶部を除いた水層は希塩酸でpH3.0に調整した後、1.2倍量のn-ブタノールを加え3回抽出した。得られたn-ブタノール可溶部に1.2倍量の5%炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて3回抽出した。5%炭酸水素ナトリウム不溶部（n-ブタノール層）は無水硫酸ナトリウムで一晩乾燥した。その後、溶媒留去をしてn-ブタノール可溶部の中性部（NBフラクション）(7.42g)を得た。更に、n-ブタノール不溶部（5%炭酸水素ナトリウム可溶部）は希塩酸でpH3.0に調整した後、1.2倍量のn-ブタノールを加えて3回抽出した。n-ブタノール層は無水硫酸ナトリウムで一晩乾燥し、溶媒留去をしてn-ブタノール可溶部の酸性部（ABフラクション）(15.6g)を得た。

2.1.2 ジベレリンフラクションの生物活性試験

矮性稻、短銀坊主を使用し、NishijimaとKatsura¹³⁾の開発した稻幼苗試験法により2.1.1で分画した各ジベレリンフラクションの生物活性を調べた。被験液はAE, NE, AB, NB各フラクションの1μg/μl, 10μg/μl, 50μg/μl, 100μg/μl, 200μg/μlの50%アセトン水溶液を用いた。比較のため、GA₃及びGA₄の1ng/μl, 10ng/μl 50%アセトン水溶液も用いた。また、コントロールには50%アセトン水溶液のみを用いた。

2.1.3 AEフラクションの分画及び生物活性試験

AEフラクション(500mg)を分取TLC(溶媒：酢酸エチル：クロロホルム：酢酸=20:8:1)に掛け展開した後、Rf値0.1間隔毎(Rf値0~0.1は0.05間隔)に分画し、11のフラクションを得た。これらのフラクションを用いて、稻幼苗試験法¹³⁾とレタス下胚軸検定法^{14,15)}による生物活性試験を行った。稻幼苗試験法は2.1.2と同様の方法で行った。レタス下胚軸検定法はFranklandとWareing¹⁵⁾の方法により行った。分画した各11フラクションの100ppm及び1000ppmのメタノール溶液をシャーレ(90mm)の中の濾紙に染み込ませた。一晩風乾したものに4mlの水を加え、その上に25℃、暗黒下に2日間置いて発芽させ下胚軸が6~8mmに伸長したレタス種子を10個ずつ置いた。シャーレの蓋をして25℃連続光(3000ルクス)照射下で5日間培養した後、下胚軸の長さを測定した。なお、濾紙が乾燥しないようにシャーレをパラフィルムでシールをした。また、試験に用いたレタスの品種はグレートレイクスを使用した。

(A) AEフラクション中のGA₃, GA₄の定量

標品とのTLC上の比較から、上記11フラクションに分画した中のFr. 4及び5にGA₃が、Fr. 7及び8にGA₄が含まれているので、各々をp-ブロモフェナシルエステルとしてHPLCで定量した。p-ブロモフェナシルエステルの調製は岡村¹⁰⁾の方法により行った。各々のフラクション(10mg)を10mlのナスフラスコに入れ、メタノール(1.0ml)に溶解した。この溶液にフェノールフタレイン溶液を2滴加えた後、0.1Nメタノール性水酸化カリウム溶液を加え中性に(フェノールフタレイン指示薬の変化から)した後、溶媒を留去した。p-ブロモフェナシルプロマイド(7.0mg)と18-Crown-6(0.4mg)をアセトニトリル(0.4ml)に溶解したものを加え、80℃で30分間加熱攪拌した。その後、溶媒を留去して得られた反応生成物を分取TLC(溶媒：酢酸エチル：クロロホルム：酢酸=20:8:1)に掛け、GA₃及びGA₄のp-ブロモフェナシルエステルフラクションを得た。各々のエ

ステルフラクションを HPLC [カラム：ZORBAX ODS (4.6×250mm)；溶離剤：メタノール：水=2:1, 4:1; 流速: 1.0ml/min; UV 検出波長: 257nm] に掛け、予め標品を用いて作成した検量線から GA₃ 及び GA₄ の *p*-ブロモフェナシルエステルの定量を行い、その値から GA₃ 及び GA₄ の定量値を求めた。

2.2 カウレンの微生物変換によるジベレリンの生産

2.2.1 カウレンの単離

スギの葉（生重量5.75kg, 絶乾重量3.21kg）を *n*-ヘキサンで2回加熱抽出（65°C, 8時間）し、得られた抽出物（84.2g）をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶媒：*n*-ヘキサン）に掛け、粗カウレンフラクション（18.2g）を得た。粗カウレンフラクションをメタノール：エーテル（1:1）で再結晶し、カウレンの白色針状結晶（6.69g）を得た。[収率: 0.12% (スギ生葉)] 単離したカウレンは以前にスギ葉から単離した標品⁷⁾と混融試験を行っても融点降下を示さなかった。

2.2.2 微生物変換によるジベレリン生産

(A) 供試菌

G. fujikuroi IFO 9977を使用した。

(B) *G. fujikuroi* の培養

岡村¹⁰⁾の方法により行った。なお、培養は10Lスケールで行い、基質としてカウレン、2.5gを使用した（150mg/mlの酢酸エチル溶液として培養液に加えた）。

(C) 代謝物の抽出

(B)で10日間培養した培養液から菌体を濾別し、菌体は蒸留水でよく洗浄した。この濾液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、酢酸エチルで2回抽出した。抽出液は飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで一晩乾燥させた。その後、溶媒を留去して抽出物（中性部）（0.55g）を得た。更に、水層に希塩酸を加えてpH 2.5とした後、酢酸エチルで3回抽出した。抽出液は飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで一晩乾燥させた後、溶媒を留去して抽出物（酸性部）（0.93g）を得た。

(D) 酸性部の分画

ジベレリンは、TLC上で硫酸を噴霧後、加熱すると紫外線照射下で蛍光を発する¹⁶⁾。この方法を酸性部、中性部に適応すると酸性部で蛍光が認められたので、酸性部にジベレリンが存在することを確認した。(C)で得られた酸性部（0.93g）をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶媒 酢酸エチル：クロロホルム：酢酸=40:8:1）に掛け、ジベレリンの存在する2つのフラクション、Fr.1（168.7mg）及びFr.2（263.2mg）を得た。

2.3 キャラボクへのジベレリンの投与

2.3.1 キャラボク新芽の成長

愛媛大学農学部構内に庭園木として植栽され、高さ150cmで維持されているキャラボクの先端部の新芽を実験に使用した。岡村¹⁰⁾の方法により得たカウレンの微生物変換からのジベレリンフラクション、Fr.1, Fr.2 及び Fr.1 と Fr.2 の混合物（1:1）を濃度4μg/μl (80%エタノール水溶液)に調整し、その2.5, 5, 10μlを新芽下の枝にマイクロシリンジで注入した。比較のため、GA₃とGA₄の1μg/μl (80%エタノール水溶液)及びコントロールとして80%エタノール水溶液のみをキャラボク新芽下の枝に注入した。各試料の各濃度に対して各々5本のキャラボク新芽を使用した。投与

は8日毎に5回 ('96.4.1から '96.5.2まで) 行った。また、測定は6回 ('96.4.1から '96.5.10まで) 行い、注入点から新芽の先端までの長さを新芽の長さとして測定した。

2.3.2 キャラボク中のタキサン類¹⁷⁾

ジベレリンの投与が終了してから20週間後に、キャラボク中のタキサン類（タキソール、セファロマンニン、バカチンⅢ、10-デアセチルバカチンⅢ）を定量した。キャラボクの各々の試験部位を採取し、細かく切斷した後メタノールで抽出した（室温、1週間）。この抽出を2回繰り返した。メタノール抽出液は減圧下に濃縮してメタノール抽出物を得た。この濃縮物に水を加え、ジクロロメタンで3回抽出した。ジクロロメタン可溶部は無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮してジクロロメタン可溶部を得た。このジクロロメタン可溶部をHPLC [カラム：SUPELCOSIL-LC-F；溶離剤：アセトニトリル：テトラヒドロフラン：水=17:28:55；流速：1.5ml/min；検出波長：227nm] に掛け、予め標品（タキソール、セファロマンニン、バカチンⅢ、10-デアセチルバカチンⅢ）を用いて作成した検量線から上記4種のタキサン化合物を定量した。

3. 結果及び考察

3.1 キャラボク新芽の内性ジベレリン

3.1.1 キャラボク新芽中の各ジベレリンフラクションの生物活性

Fig. 1に示した分画法で、キャラボクの新芽（5.0Kg）からAEフラクション（31.46g）、NEフラクション（17.2g）、NBフラクション（7.42g）、ABフラクション（15.06g）を得た。高橋⁶⁾は高等植物のジベレリンの研究から、AEフラクションには大部分の遊離型のジベレリンが、NEフラクションにはフリーのカルボキシル基を持つジベレリングルコシドエステルが、またNBフラクションにはジベレリンのグルコシドエステルが、ABフラクションにはジベレリングルコシドが含まれていることを示している。これら分画した4フラクションのジベレリン活性を調べ、その結果をTable 1に示した。低濃度の場合、顕著なジベレリン活性は見られなかったが、NE及びNBフラクションでコントロールよりも約1.25倍高い活性を示した。しかし、高濃度の場合はコントロールのそれよりも活性が低くなった。これは添加した濃度が高すぎたためか、または各フラクションには阻害物質も含まれていた

Table 1. Comparison of the biological activity of four gibberellin fractions from sprouts of Kyaraboku.

fractions	concentration(μg/μl)				
	1	10	50	100	200
AE	0.99	0.92	0.91	0.90	0.87
NE	1.23	1.07	0.91	0.93	0.96
AB	1.01	0.99	0.99	0.96	0.96
NB	1.25	0.97	0.87	0.83	0.79
control	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Note: AE-NB refer to Fig.1.

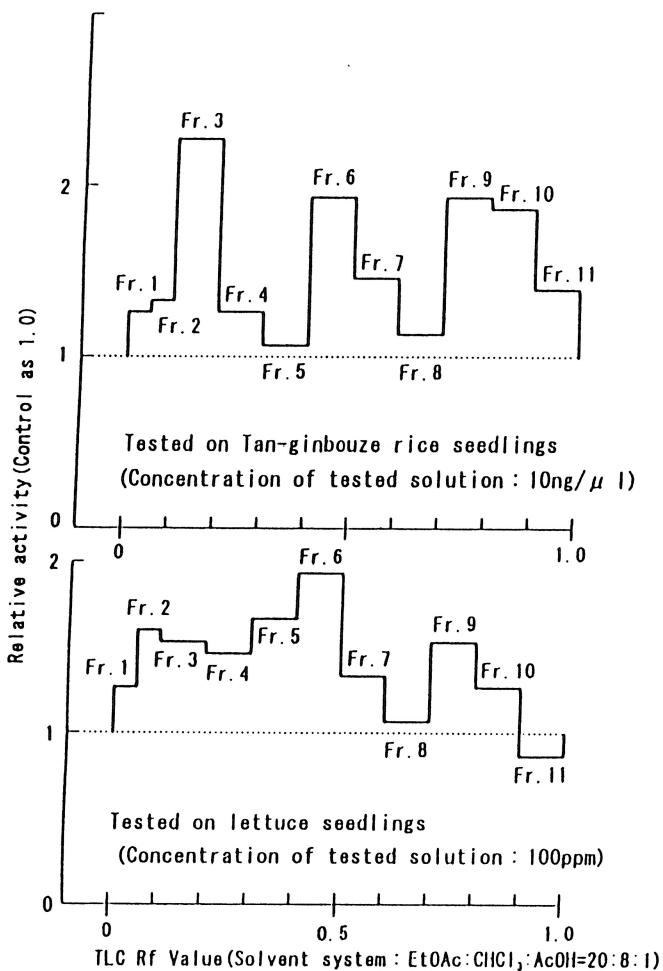


Fig. 2. Histograms showing the GA activities of AE fraction of Kyaraboku.

ためと考えられた。低濃度では各フラクションに含まれる阻害物質の阻害効果よりもジベレリンの伸長効果の方が大きかったが、高濃度では逆に阻害効果が大きくなり伸長効果を上回ったため伸長の阻害が起こったものと考えられた。いずれにしても、稻幼苗の伸長度から各フラクション中のジベレリン活性は低いものと考えられた。

3.1.2 キャラボク新芽中のAEフラクションのジベレリン

大部分の遊離型ジベレリンが含まれていると考えられるAEフラクションを分取TLCに掛けて展開した後、Rf値0.1間隔毎（但し、Rf値0～0.1は0.05間隔）に分取し、11フラクションに分画した。得られた各フラクションのジベレリン活性を稻幼苗試験法¹³⁾とレタス下胚軸検定法¹⁵⁾により調べた。その結果Fig. 2に示した。稻幼苗試験法ではFr. 3, 6, 9及び10に、レタス下胚軸検定法ではFr. 2, 3, 5, 6及び9に高い活性が認められた。Fr. 3, 6及び9はいずれの生物活性試験においても活性が認められたので、これらのフラクションにはキャラボク新芽の成長に関与するジベレリンが含まれているものと考えられた。また、標品とのTLCの比較から、活性の低かったFr. 4と5にはGA₃が、Fr. 7と8にはGA₄が含まれていることが分かった。そこで、2.1.3(A)に記した方法により、GA₃及びGA₄の定量を行った。その結果、キャラボク新芽中にGA₃が $2.84 \times 10^{-5}\%$ 、GA₄が1.71

$\times 10^{-5}$ %含まれていた。また、AEフラクションに対する GA₃と GA₄の割合は、各々 $4.52 \times 10^{-3}\%$, $2.72 \times 10^{-3}\%$ であった。上記の結果は、キャラボク新芽中には GA₃, GA₄以外に成長に関与しているジベレリンが Fr. 3, 6 及び 9 中に含まれていることを示している。今後、Fr. 3, 6 及び 9 中に含まるジベレリンについて検討していく必要がある。また、キャラボク新芽中の NE フラクション、NB フラクション、AB フラクション中のジベレリンについても調べていく必要があるものと考えられる。なお、NE フラクションから TLC 上で糖の呈色試薬、アニスアルデヒド-硫酸¹⁸⁾で呈色する一種のジベレリングルコシドエステルを単離した。この構造については現在検討中である。

3.2 ジベレリン投与によるキャラボク新芽の伸長への影響

キャラボクにカウレンの微生物変換により生成されたジベレリンを 8 日毎に 5 回投与して、その新芽の伸長に及ぼす影響を調べた。最初の投与から 48 日目の伸長度の結果を Fig. 3 に示した。すべての試料において、コントロールよりも伸長していることが分かった。その中でも、Fr. 1 と Fr. 2 の混合物 (1 : 1) を $10 \mu\text{l}$ (1 個体当たり $200 \mu\text{g}$) 投与した場合、コントロールのそれの 1.17 倍伸長し、最も大きな効果を示した。しかし、Fr. 1, Fr. 2 を単独で投与した場合、あるいは GA₃, GA₄ を単独で投与した場合の伸長は、Fr. 1 と Fr. 2 の混合物 (1 : 1) を投与した場合のそれより

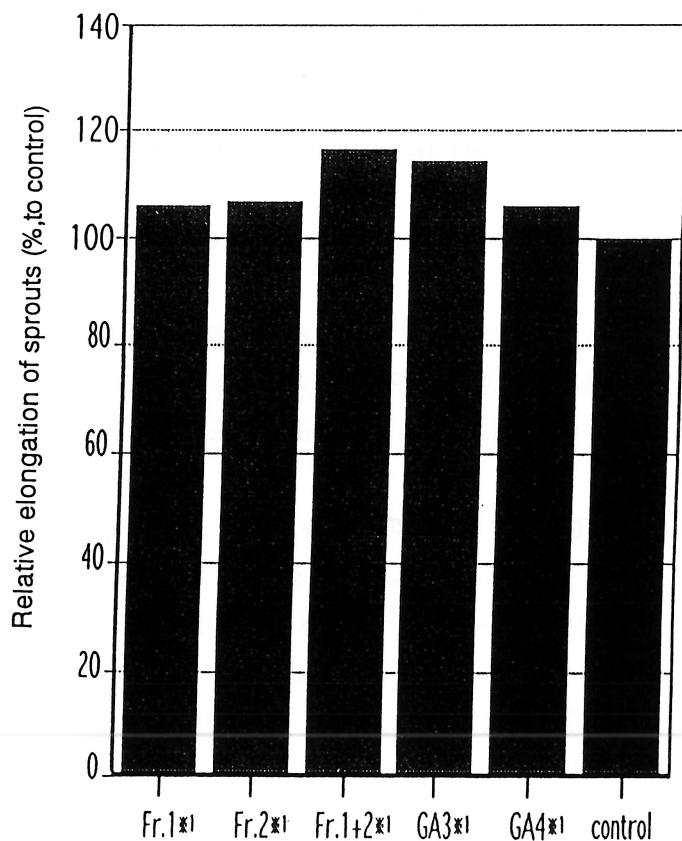


Fig. 3. Effect of addition of gibberellins on elongation of Kyaraboku sprouts.
Note: * 1 : $10 \mu\text{l}$ of each gibberellin solution was added.

も大きくなかった。岡村¹⁰⁾、柳田¹⁹⁾はカウレンの微生物変換により生成したジベレリンフラクション、Fr. 1 には GA₇, iso-GA₇, GA₄ が、Fr. 2 には GA₃, iso-GA₃ が含まれていることを示している。Fr. 1 と Fr. 2 の混合物（1 : 1）を投与した場合の結果が、GA₃ や GA₄ を単独で投与した場合のそれらよりも良い結果であったのは、カウレンの微生物変換で生成されたジベレリン類の相乗効果によるものと考えられた²⁰⁾。ここで得た結果は、ジベレリン投与によりキャラボク新芽の伸長が促進されたことを示しているが、観察される伸長促進効果はそれほど大きなものではなかった。これはここで投与したジベレリン量が、後述するように Pharis ら²¹⁾が *Cupressarizoneica* の節間伸長を促進させるために投与したジベレリン量の1/5～1/40であったため、新芽の伸長に充分な量のジベレリンが与えられなかっただけと考えられた。それゆえ、ジベレリン投与量を増やせば、新芽の伸長促進効果も大きくなるものと考えられる。今後、ジベレリン投与量を増やした場合の新芽の伸長促進効果については実験により調べる必要があるものと考えられる。

Pharis ら²¹⁾は針葉樹が外から与えたジベレリンを迅速に、比較的不活性なジベレリングルコシドやグルコシルエステルのような複合型ジベレリンに変換することを報告しているので、本研究で投与したジベレリンも比較的不活性な複合型ジベレリンにかえられたため、大きな伸長促進効果を示さなかっただけである可能性もある。一方で、Pharis ら²¹⁾は GA₃ を *C. arizoneica* 1 個体あたり 1 mg を与えた場合、節間伸長はコントロールの 4 倍になることを報告しているので、キャラボクでもジベレリン投与の方

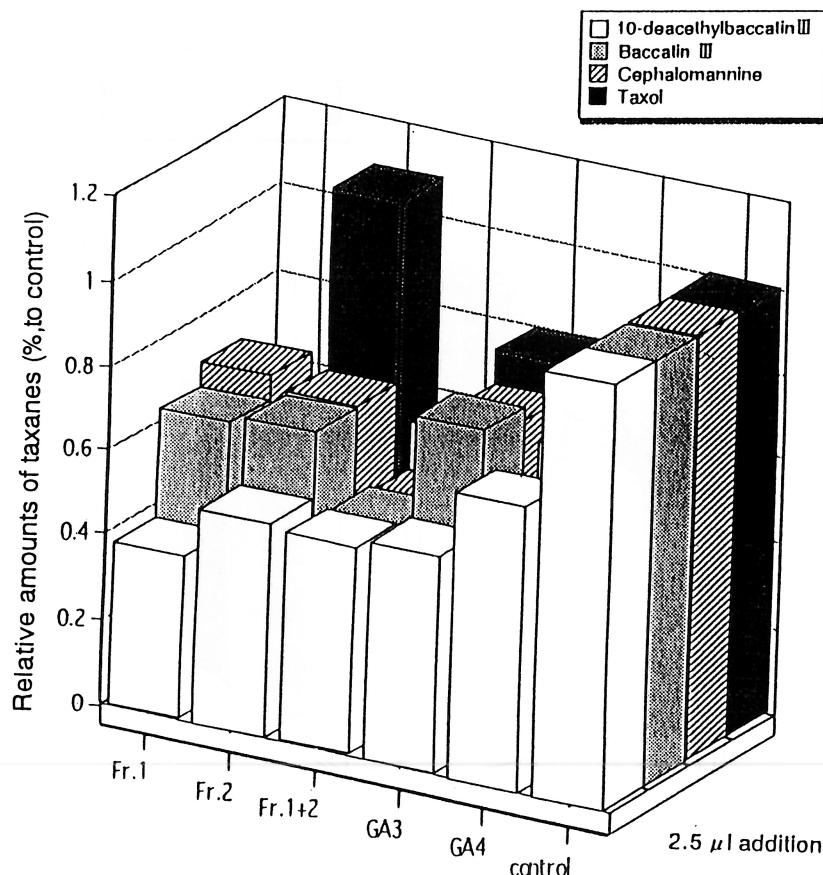


Fig. 4. Effect of addition of gibberellins of Kyaraboku on amounts of production of taxanes.
Note : 2.5 μ l of each gibberellin solution was added.

法、投与の場所あるいは時期等を詳しく検討していくれば、新芽を大きく伸長させる可能性も残っている。

以上の結果から、ジベレリン投与によりキャラボク新芽の伸長を促進させる効果のあることが示された。

3.3 ジベレリン投与によるタキサン類生産への影響

結果をFig. 4, 5及び6に示したように、総体的には、キャラボクにジベレリンを投与した場合、コントロールに比べ、タキソール、セファロマンニン、バカチンⅢ及び10-デアセチルバカチンⅢの含量は減少する傾向にあった。これは新芽が伸長したために単位体積あたりのタキサン類の量がコントロールのそれよりも減少したためと考えられる。しかし、Fig. 4に示すように、Fr. 2を $2.5 \mu\text{l}$ (1個体当たり $50 \mu\text{g}$) 投与した場合、タキソールの含量はコントロールのそれの1.09倍増加した。また、Fig. 5に示したように、GA₃を $5.0 \mu\text{l}$ (1個体当たり $25 \mu\text{g}$) 投与した場合、バカチンⅢの含量はコントロールの1.42倍、セファロマンニンのそれは1.35倍増加した。更に、Fig. 6に示すように、Fr. 1とFr. 2の混合物 (1 : 1) を $10 \mu\text{l}$ (1個体当たり $200 \mu\text{g}$) 投与した場合、タキソールの含量はコントロールのそれよりも1.07倍増加した。これらの結果は、カウレンの微生物変換により生産されるジベレリンが新芽中の有用な二次代謝物生産を促進していることを示している。

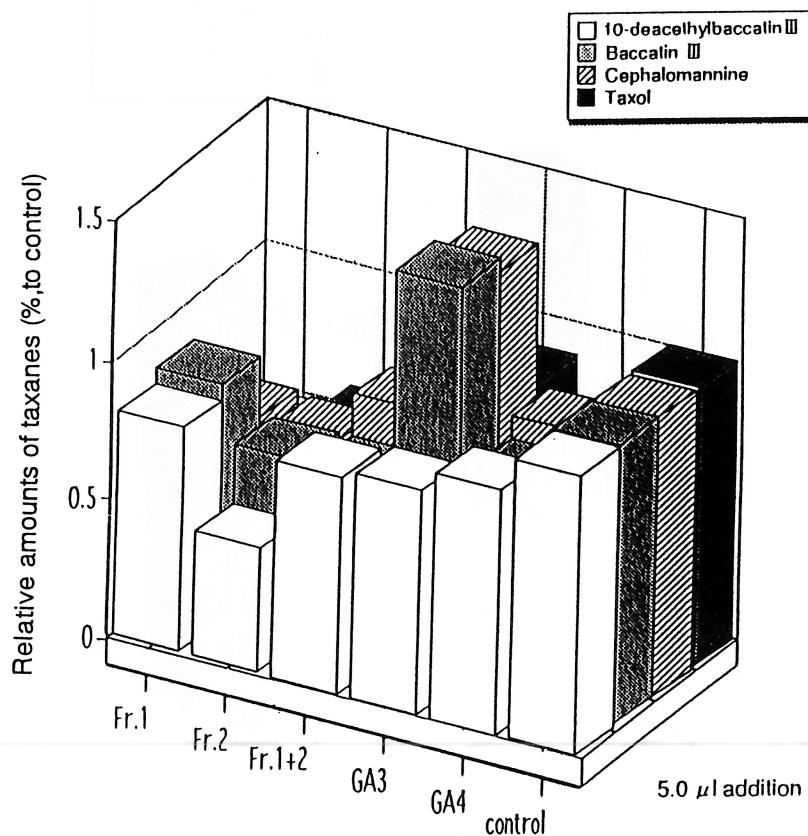


Fig. 5. Effect of addition of gibberellins of Kyaraboku on amounts of production of taxanes.
Note: $5.0 \mu\text{l}$ of each gibberellin solution was added.

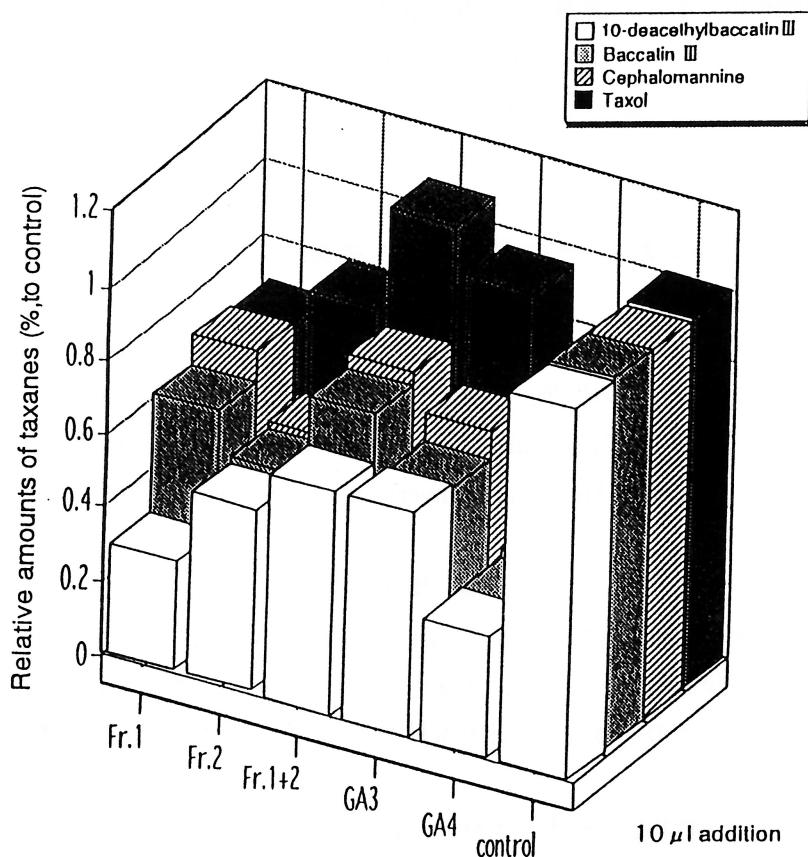


Fig. 6. Effect of addition of gibberellins of Kyaraboku on amounts of production of taxanes.
Note : 10.0 μ l of each gibberellin solution was added.

これまで、ジベレリンは植物の伸長成長を促進するが、二次代謝物生産には殆ど影響しないと言われていた。しかし、ここで得た結果は、ジベレリンも二次代謝物生産に影響を及ぼしており、二次代謝物生産に有用なジベレリンも見いだせる可能性のあることを示唆している。これらの結果は、カウレンの微生物変換により生成したジベレリンの投与量を種々検討していくれば、キャラボク新芽の伸長を促進させることができることが出来るばかりでなく、抗ガン剤タキソールやその前駆体であるバカチンⅢ等の生産量を増加させることができる事を示しており、この微生物変換により生産されるジベレリンは樹木の伸長や二次代謝物生産にも利用できるものと思慮される。

謝 辞

本研究をすすめるにあたり、キャラボク新芽をご提供下さいました愛媛県緑化センターの諸氏に謝意を表します。

引 用 文 献

- 1) J. MacMillan ; R. J. Pryce : "Phytochemistry Vol. III", ed. P. M. Lawrence, Van Nostrand

- Reinold, 1973, p.283-326.
- 2) 田村三郎：“ジベレリン”，東京大学出版会，1969, p.10.
 - 3) 勝見允行：“植物のホルモン”，裳華堂，1991, p.45-82.
 - 4) 高橋信孝, 丸茂晋吾, 大岳望：“生理活性天然物化学”, 東京大学出版会, 1981, p.18-45.
 - 5) 倉石晋：“植物のホルモン 第二版”, 東京大学出版会, 1988, p.55-78.
 - 6) 高橋信孝：“天然物有機化学実験法”, 講談社, 1977, p.263-279.
 - 7) 橋 燐郎, 上村雅彦, 住本昌之：微生物・酵素・化学変換による林産有機資源の有効利用に関する研究（第3報）. カウレンおよびその誘導体の微生物変換によるジベレリンの合成, 木材学会誌, 35(8), 761-770(1989).
 - 8) 伊藤和貴, 橋 燐郎, 小野木利成, 久保田 実, 東 昌弘：バイオリアクターを用いたカウレンの微生物変換によるジベレリンの生産, 木材学会誌, 39(5), 610-615(1993).
 - 9) H. Hirabayashi ; K. Itoh ; S. Tachibana ; T. Oki ; M. Higashi : Screening of a Strain of *Gibberella fujikuroi* for Improved Microbial Conversion of (-)-kaurene, Mokuzai Gakkaishi, 42 (11), 1134-1138.
 - 10) 柳田高志, 岡村知帆, 伊藤和貴, 沖 妙, 橋 燐郎：*Gibberella fujikuroi* 菌のプロトプラスト融合による融合菌の作出の試み, 愛媛大学農学部演習林報告, No.34, 93-106(1996).
 - 11) 岡村知帆, 橋 燐郎, 伊藤和貴, 沖 妙, 久保田 実, 東 昌弘：カウレンの微生物変換により生成したジベレリン類とその生物活性, 日本木材学会40周年記念大会発表要旨集, 東京, 1995, p.401.
 - 12) 橋 燐郎：樹木の生理活性物質の利用, 木材学会誌, 41(11), 967-977(1995).
 - 13) T. Nishijima ; N. Katsura : A Modified Micro-Drop Bioassay Using Dwarf Rice for Detection of Femtomol Quantities of Gibberellins, Plant Cell Physiol., 30(5), 623-627(1989).
 - 14) 池川信夫, 丸茂晋吾, 星 元紀：“生理活性物質のバイオアッセイ”, 講談社, 1984, p.107.
 - 15) B. Frankland ; P.F. Wareing : Effect of Gibberellic Acid on Hypocotyl Growth of Lettuce Seedlings, Nature, 185(4708), 255-256(1960).
 - 16) 高橋信孝：“天然物有機化学実験法”, 名取信策, 池川信夫, 鈴木真吾編, 講談社, 1977, p.263-279.
 - 17) 吉田真弓, 伊藤和貴, 沖 妙, 橋 燐郎, 久保田 実, 東 昌弘：イチイ科樹木の組織培養による抗癌性物質, タキソールの生産の試み, 第46回日本木材学会大会研究発表要旨集, 熊本, 1996, p.7.
 - 18) 橋本庸平：“薄層クロマトグラフィー”, 南山堂, 1968, p.100-104.
 - 19) 柳田高志：カウレンの微生物変換によるジベレリンの生産並びにその有効利用に関する研究, 愛媛大学農学部修士論文, 1996, p.44-49.
 - 20) 柳田高志, 伊藤和貴, 沖 妙, 橋 燐郎：カウレンの微生物変換により生成したジベレリンの有効利用 (I), 第47回日本木材学会大会研究発表要旨集, 高知, 1997, p.411.
 - 21) R. P. Pharis ; G. C. Kuo ; J. L. Glenn. : "Plant Growth Substances 1970", ed. D. J. Carr, Springer Verlag, 1970, p.441-448.

(1997年11月10日受理)