

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2000-37145
(P2000-37145A)

(43) 公開日 平成12年2月8日 (2000.2.8)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード*(参考)
A 0 1 H 1/00		A 0 1 H 1/00	Z 2 B 0 3 0
A 6 1 K 35/78	A D U	A 6 1 K 35/78	A D U K 4 C 0 8 8

審査請求 有 請求項の数 2 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願平10-208473	(71) 出願人	591025303 農林水産省果樹試験場長 茨城県つくば市藤本 2-1
(22) 出願日	平成10年7月24日 (1998.7.24)	(71) 出願人	000195568 生物系特定産業技術研究推進機構 埼玉県大宮市日進町 1丁目40番地 2
		(72) 発明者	矢野 昌充 静岡県清水市興津本町318
		(72) 発明者	小川 一紀 静岡県清水市小鹿 3-3-2
		(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔 (外 2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 オーラプテン高含量ミカン科植物の作出法

(57) 【要約】

【解決手段】 カラタチに属する植物を花粉親とし、ミカン科に属するカラタチ以外の植物を種子親として、両者を交配し、雑種植物を得ることを特徴とするオーラプテン高含量ミカン科植物の作出法。

【効果】 発癌抑制物質として有用なオーラプテンを高含量で含むミカン科植物を作出する方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 カラタチを花粉親とし、ミカン科に属するカラタチ以外の植物を種子親として、両者を交配し、雑種植物を得ることを特徴とするオーラプテン高含量ミカン科植物の作出法。

【請求項2】 ミカン科に属するカラタチ以外の植物が、カンキツ属に属する植物であることを特徴とする請求項1記載のオーラプテン高含量ミカン科植物の作出法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、発癌抑制物質として有用なオーラプテンを高含量で含むミカン科植物を作出する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】ミカン科植物に特有なクマリンであるオーラプテン及びその類縁化合物（エポキシオーラプテン、ウンベリフェロン、イソインペラトリン、[(3,7-ジメチル-6-エポキシ-2-オクチニル) オキシ] プソラレン）は、村上、大東、小清水らの研究によって発癌抑制効果があることが明らかにされている（Jpn. J. Cancer Res. 88, 443-452, 1977）。この研究は、オーラプテンが発癌プロモーターであるTPA(12-O-tetradecanoylphorbol13-acetate)による腫瘍の発生を抑制することのほか、発癌に関与する活性酸素（superoxide, hydroperoxide, NO）を消去するのではなく、その産生を抑制していることを明らかにし、オーラプテンがこれまでに発癌抑制が明らかにされている物質の中では極めて特異的な発癌抑制効果を発揮することを明らかにした。これらの発見はオーラプテンが発癌抑制物質として医薬品、食品添加物として発展する可能性を示している。

【0003】オーラプテンはミカン科植物の果皮や果肉にが含まれているので、これらの植物からオーラプテンを得ることは可能である。しかし、カラタチ（*Poncirus trifoliata*）が比較的少量のオーラプテンを含有することが明らかになっているものの、その他のミカン科植物がどの程度オーラプテンを含有するかについては必ずしも明らかにされていない。また、オーラプテン含量の高いカラタチにしても、オーラプテンを高含量で含む部位（果肉）の絶対量が少ないため、果実1個当たりから採取できるオーラプテンの量はわずかである。このため、実験室レベルではともかく、商業的レベルでミカン科植物からオーラプテン得ることは従来行われていなかった。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】既存のミカン科植物よりもオーラプテン含量の高い植物が得られれば、その植物から商業目的でオーラプテンを生産することができる。本発明は、かかる観点からなされたものであり、その目的とするところは、オーラプテン含量の高いミカン

科植物を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記課題を解決するため鋭意検討を重ねた結果、カラタチを花粉親とし、他のミカン科植物を種子親として交配することにより、両親のオーラプテン含量を大幅に上回る雑種植物を得られることを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は、カラタチを花粉親とし、ミカン科に属するカラタチ以外の植物を種子親として、両者を交配し、雑種植物を得ることを特徴とするオーラプテン高含量ミカン科植物の作出法である。

【0006】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。本発明のオーラプテン高含量ミカン科植物の作出法は、カラタチを花粉親とし、ミカン科に属するカラタチ以外の植物を種子親として、両者を交配し、雑種植物を得ることを特徴とするものである。花粉親として使用する植物は、カラタチ、即ち、*Poncirus trifoliata* に属する植物であればどのようなものでもよい。種子親として使用する植物も特に限定されないが、カンキツ（*Citrus*）属に属する植物を使用することが好ましく、ウンシュミカンまたはユズを使用するのが特に好ましい。

【0007】交配は、特別な方法を用いる必要はなく、通常に方法に従って行うことができる。例えば、ミカン科植物の開花時に予め採取したカラタチの花粉を用いて人工交配を行えばよい。交配から交雑実生を得る工程も常法に従って行い得る。例えば、交配の結果得られた果実を樹上で成熟させた後、種子を取り出し、適当な時期に播種すればよい。得られた交雑実生は、そのまま成長させた成木にすることも可能であるが、適当なミカン科植物の成木に高接ぎすることが好ましい。通常、高接ぎから2、3年で果実を得ることができる。

【0008】

【実施例】〔実施例〕カラタチを花粉親とし、イヨカン（*Citrus iyo*）、ウンシュウミカン（*Citrus unshiu*）、ユズ（*Citrus junos*）、ハッサク（*Citrus hassaku*）、ナツダイダイ（*Citrus natudaidai*）、クネンボ（*Citrus nobilis*）、タチバナ（*Citrus tachibana*）の7種類のミカン科植物を種子親とし、交配を行い交雑実生を得た。交雑実生は、それぞれ16、11、3、3、1、2、2個体得られた。これらの交雑実生を15～20年栽培した後、果実を採取し、果皮及び果肉のオーラプテン含量を測定した。オーラプテン含量の測定は、以下のように行った。

【0009】洗浄した果実を適当なサイズに輪切りした後、凍結乾燥し、これから果皮部、果肉部を一定量ずつ採取し、微粉末化した。この微粉末1gをアセトン中で粉砕し、オーラプテンを抽出した後、濾過し、残渣をエタノールで洗浄した。濾液と洗浄液をあわせ、ロータリーエバポレーターで溶媒を除去した。これをエタノール

ル：アセトン、1：1の溶媒で定容し、0.2 μmのメンブランフィルターで濾過後、ODSカラム、溶出液75%メタノールでHPLC分析を行った。オーラプテン含量の定量は、ハッサクから調製し、NMR等で化学構造を確認したオーラプテンを標品にして作成した検量線に基づき算出した。この結果を図1及び2に示す。

【0010】果皮では、既存の系統（ハッサクとカラタチ：図中の最下段の2つ）に比較して著しくオーラプテン含量の高い個体が得られた。例えば、ウンシュウミカン×カラタチの雑種の中には乾燥試料1g中に16mg以上と既存の系統の約15倍もの含有量を示すものがあった。一方、果肉では、カラタチの含有量が相当高いものの、ユズ×カラタチの雑種の中にはこれを上回る含有量の個

体も存在した。なお、カラタチの果肉は、乾燥重量当たりのオーラプテン含量は高いが、果実内はほとんど種子が占め、果肉はほとんど含まれない。従って、カラタチでは、果実1個から得られるオーラプテンの量は少ない。

【0011】〔参考例〕カンキツ(Citrus)属、カラタチ(Poncirus)属、キンカン(Fortunella)属に属する67種類の果実について、オーラプテン含量を測定した。オーラプテン含量の測定は、上記の実施例と同様に行った。この結果を表1に示す。

【0012】

【表1】

学名 ¹⁾		一般名	各種カンキツの果皮および果肉中のオーラプテン含量 ²⁾	
			含量 (μg/g dw)	
			果皮	果肉
Citrus				
Papedas				
	<i>C. hystrix</i>	ブルット	tr. ³⁾	tr.
Citrons				
	<i>C. medica</i>	シトロン	n.d. ³⁾	- ³⁾
Lemons, limes and their relatives				
	<i>C. limon</i>	ユレカレモン	n.d.	n.d.
	<i>C. meyeri</i>	マイヤーレモン	0.013	-
	<i>C. jambhiri</i>	ラフレモン	tr.	n.d.
	<i>C. latifolia</i>	タヒチライム	n.d.	n.d.
	<i>C. limettioides</i>	スイートライム	n.d.	n.d.
	<i>C. montana</i>	ピロロ	tr.	-
	<i>C. lumia</i>	ルミー	tr.	n.d.
	<i>C. limonia</i>	ルミア	0.014	-
Pummeloos				
Pummeloos				
	<i>C. grandis</i>	ヒラドブンタン	0.048	0.007
		マトウブンタン	0.074	0.004
		バンベイユ	0.093	0.030
		カオバン	0.227	0.012
		カオファン	0.164	0.004
		カイコウカン	0.125	0.014
		アンセイカン	0.189	0.023
		タニガワブンタン	0.031	0.000
		エガミブンタン	0.012	0.013
		イワイカン	0.026	0.004
		シャテンユ	0.100	0.006
		ヒロシマナツザボン	0.244	0.040
	<i>C. pseudoguigui</i>	シンユズ	0.091	0.009
Grapefruits				
	<i>C. paradisi</i>	マーシュグレープフルーツ	0.432	0.040
Pummelo-like miscellaneous				
	<i>C. glaberrima</i>	キヌカワ	0.408	tr.
	<i>C. hassaku</i>	ハッサク	0.588	0.035
		ワコウハッサク	0.810	0.049
		ノマベニハッサク	1.149	0.055
	<i>C. tengu</i>	テング	0.004	0.047
	<i>C. medioglobosa</i>	ナルトミカン	1.453	0.036
	<i>C. natsudaikai</i>	ナツダイダイ	0.955	0.037
		カワノナツダイダイ	1.044	0.061
	<i>C. ampullacea</i>	ヒョウカン	0.493	0.032
	<i>C. sulcata</i>	サンボウカン	tr.	n.d.
	<i>C. sinograndis</i>	オートーミカン	0.560	0.016
	<i>C. iyo</i>	イヨカン	0.014	0.002
	<i>C. tankan</i>	タンカン	n.d.	n.d.
	<i>C. tamurana</i>	ヒュウガナツ	n.d.	n.d.
	<i>C. aurea</i>	カワバタ	0.097	0.001
	<i>C. shunkokan</i>	シュンコウカン	0.008	0.003
	<i>C. ujuikitsu</i>	ウジュキツ	tr.	n.d.
Sour oranges				
	<i>C. aurantium</i>	サワーオレンジ	n.d.	n.d.
		ブーケツ	n.d.	n.d.

【0013】

学名 ^{b)}	一般名	含量 (μg/g dw)	
		果皮	果肉
	ザダイダイ	n.d.	n.d.
	シュウトウ	n.d.	n.d.
	ロクガツミカン	n.d.	n.d.
Sweet oranges			
<i>C. sinensis</i>	バレンシアオレンジ	n.d.	n.d.
	モリタネーブル	tr.	n.d.
Yuzu and its relatives			
<i>C. junos</i>	ユズ	0.376	0.055
<i>C. hanayu</i>	ハナユ	0.009	0.002
<i>C. sudachi</i>	スタチ	0.004	0.003
<i>C. inflata</i>	モチユ	0.004	0.003
<i>C. pseudo-aurantium</i>	ヘンカミカン	1.127	0.237
<i>C. wilsonii</i>	イーチャンレモン	0.173	0.456
<i>C. sphaerocarpa</i>	カボス	0.310	0.026
<i>C. nippokoreana</i>	コウライタチバナ	0.015	tr.
Mandarins			
originated in China			
<i>C. succosa</i>	ジミカン	n.d.	n.d.
<i>C. suhuiensis</i>	シカイカン	n.d.	n.d.
<i>C. kinokuni</i>	キシユミカン	n.d.	n.d.
<i>C. erythroca</i>	コベニミカン	n.d.	n.d.
<i>C. sunki</i>	スンキ	n.d.	n.d.
<i>C. deliciosa</i>	テチュウカイマンダリン	n.d.	n.d.
originated in Japan			
<i>C. unshiu</i>	ウンシュウミカン	n.d.	n.d.
<i>C. yatsusiro</i>	ヤツシロ	n.d.	n.d.
<i>C. keraji</i>	ケラジ	n.d.	n.d.
<i>C. oto</i>	オウトウ	n.d.	n.d.
<i>C. tachibana</i>	タチバナ	n.d.	n.d.
<i>C. depressa</i>	シイクワシャー	n.d.	n.d.
<i>C. leiocarpa</i>	コウジ	n.d.	n.d.
<i>C. tardiva</i>	ギリミカン	n.d.	-
originated in other areas			
<i>C. nobilis</i>	キング	n.d.	n.d.
	クネンボ	n.d.	n.d.
<i>C. reticulata</i>	ボンカン	tr.	n.d.
<i>C. tangerina</i>	ダンシータンジェリン	n.d.	n.d.
<i>C. clementina</i>	クレメンティン	n.d.	n.d.
Miscellaneous			
<i>C. bergamia</i>	ベルガモット	n.d.	n.d.
<i>C. madurensis</i>	シキキツ	tr.	n.d.
<i>C. halimii</i>		tr.	-
Fortunella			
<i>F. hindsii</i>	マメキンカン	0.130	0.014
<i>F. crassifolia</i>	ネイハキンカン	n.d.	n.d.
<i>F. margarita</i>	ナガミキンカン	n.d.	n.d.
<i>F. japonica</i>	マルキンカン	n.d.	n.d.
<i>F. polyandra</i>	ナガハキンカン	n.d.	n.d.
Poncirus			
<i>P. trifoliata</i>	カラタチ	1.312	6.563

a) 試料採集 1996年11月および1997年10月~1998年2月.

b) 学名は田中長三郎の分類による.

c) tr.:痕跡 (<0.001mg), n.d.: 未検出(<0.0001mg), -: 未分析

【0014】表1に示すように、果実中にオーラプテンを含むものはカラタチ属のほかに、カンキツ属にも存在した。カンキツ属中で、オーラプテンを含むものは、田中長三郎の分類(Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B. 21, 139-145(1969))で、初生カンキツ亜属のザボン区、ダイダイ区、後生カンキツ亜属のユズ区に属するものに集中していた。

【0015】

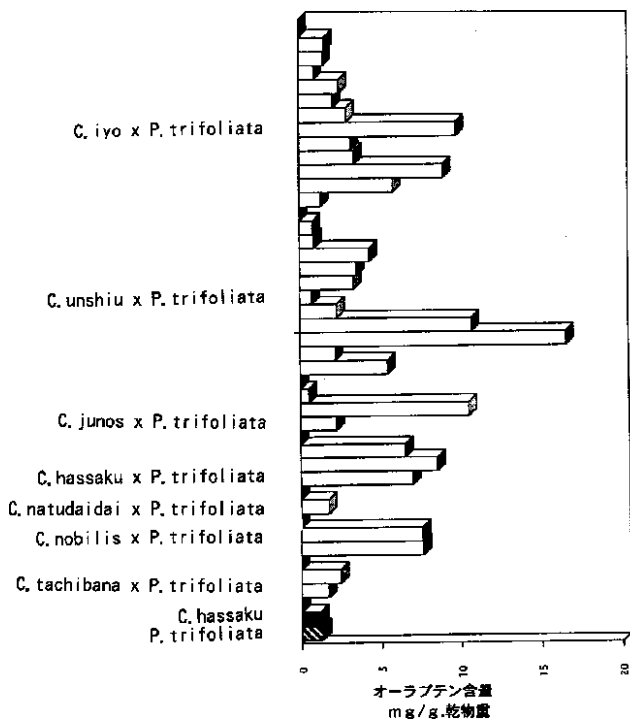
【発明の効果】本発明は、発癌抑制物質として有用なオーラプテンを高含量で含むミカン科植物を作出する方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

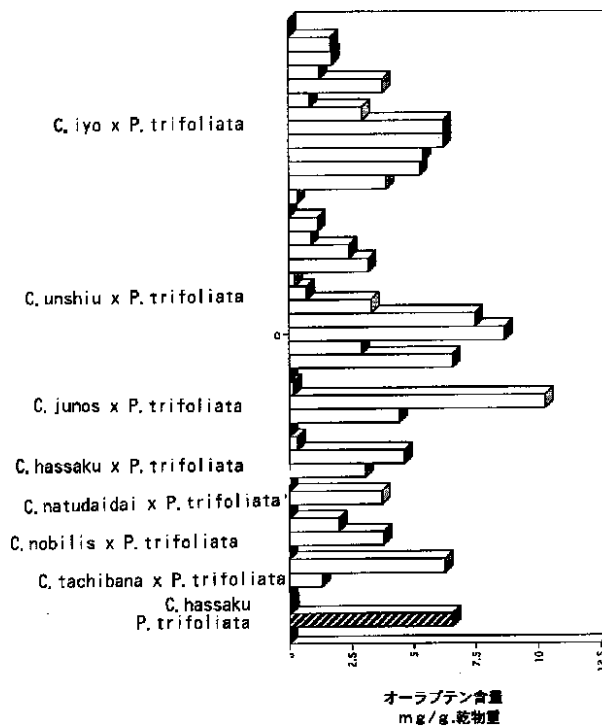
【図1】本発明の方法によって作出されたミカン科植物の果皮中のオーラプテン含量を示す図である。

【図2】本発明の方法によって作出されたミカン科植物の果肉中のオーラプテン含量を示す図である。

【図1】



【図2】



【手続補正書】

【提出日】平成11年4月28日(1999.4.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正内容】

【0012】

【表1】

各種カンキツの果皮および果肉中のオーラブテン含量²⁾

学名 ¹⁾	一般名	含量 (ng/g dw)	
		果皮	果肉
Citrus			
Papedas			
<i>C. hystrix</i>	ブルット	tr. ²⁾	tr.
Citrons			
<i>C. medica</i>	シトロネ	n.d. ²⁾	tr. ²⁾
Lemons, limes and their relatives			
<i>C. limon</i>	ユーレカレモン	n.d.	n.d.
<i>C. meyeri</i>	マイヤーレモン	0.013	-
<i>C. jambhiri</i>	ラフレモン	tr.	n.d.
<i>C. latifolia</i>	タヒチライム	n.d.	n.d.
<i>C. limettioides</i>	スイートライム	n.d.	n.d.
<i>C. montana</i>	ピロロ	tr.	-
<i>C. lumia</i>	ルミー	tr.	n.d.
<i>C. limonia</i>	ルミア	0.014	-
Pummeloos			
Pummeloos			
<i>C. grandis</i>	ヒラドブンタン	0.048	0.007
	マトウブンタン	0.074	0.004
	バンベイユ	0.093	0.030
	カオバン	0.227	0.012
	カオプアン	0.164	0.004
	カイクウカン	0.125	0.014
	アンセイカン	0.189	0.023
	タニガワブンタン	0.031	0.000
	エガミブンタン	0.012	0.013
	イワイカン	0.026	0.004
	シャテンユ	0.100	0.006
	ヒロシマナツザボン	0.244	0.040
<i>C. pseudogulgi</i>	シシユズ	0.091	0.009
Grapefruits			
<i>C. paradisi</i>	マーシュグレープフルーツ	0.432	0.040
Pummelo-like miscellaneous			
<i>C. glaberrima</i>	キヌカワ	0.408	tr.
<i>C. hassaku</i>	ハッサク	0.588	0.035
	ワコウハッサク	0.810	0.049
	ノマベニハッサク	1.149	0.055
<i>C. tengu</i>	テング	0.004	0.047
<i>C. medioglobosa</i>	ナルトミカン	1.453	0.036
<i>C. natsudaidai</i>	ナツダイダイ	0.955	0.037
	カワノナツダイダイ	1.044	0.061
<i>C. ampullacea</i>	ヒョウカン	0.493	0.032
<i>C. sulcata</i>	サンボウカン	tr.	n.d.
<i>C. sinograndis</i>	オートーミカン	0.560	0.016
<i>C. Iyo</i>	イヨカン	0.014	0.002
<i>C. tankan</i>	タンカン	n.d.	n.d.
<i>C. tamurana</i>	ヒュウガナツ	n.d.	n.d.
<i>C. aurea</i>	カワバタ	0.097	0.001
<i>C. shunkokan</i>	シュンコウカン	0.006	0.003
<i>C. uyuquitsu</i>	ウジュキツ	tr.	n.d.
Sour oranges			
<i>C. aurantium</i>	サワーオレンジ	n.d.	n.d.
	ブーケット	n.d.	n.d.

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正内容】

【0013】

学名 ^{a)}	一般名	含量 (mg/g dw)	
		果皮	果肉
	ザダイダイ	n.d.	n.d.
	シュウトウ	n.d.	n.d.
	ロクガツミカン	n.d.	n.d.
Sweet oranges			
C. sinensis	バレンシアオレンジ	n.d.	n.d.
	モリタネーブル	tr.	n.d.
Yuzu and its relatives			
C. junos	ユズ	0.376	0.055
C. hanayu	ハナユ	0.009	0.002
C. sudachi	スダチ	0.004	0.003
C. inflata	モチユ	0.004	0.003
C. pseudo-aurantium	ヘンカミカン	1.127	0.237
C. wilsonii	イーチャンレモン	0.173	0.456
C. sphaerocarpa	カボス	0.310	0.026
C. nipponkoreana	コウライタチバナ	0.015	tr.
Mandarins			
originated in China			
C. succosa	ジミカン	n.d.	n.d.
C. shuiensis	シカイカン	n.d.	n.d.
C. kinokuni	キシユミカン	n.d.	n.d.
C. erythrosa	コベニミカン	n.d.	n.d.
C. sunki	スンキ	n.d.	n.d.
C. deliciosa	チチュウカイマンダリン	n.d.	n.d.
originated in Japan			
C. unshiu	ウンシュウミカン	n.d.	n.d.
C. yatusiro	ヤツシロ	n.d.	n.d.
C. keraji	ケラジ	n.d.	n.d.
C. oto	オウトウ	n.d.	n.d.
C. tachibana	タチバナ	n.d.	n.d.
C. depressa	シイクワシャー	n.d.	n.d.
C. leiocarpa	コウジ	n.d.	n.d.
C. tardiva	ギリミカン	n.d.	-
originated in other areas			
C. nobilis	キング	n.d.	n.d.
	クネンボ	n.d.	n.d.
C. reticulata	ボンカン	tr.	n.d.
C. tangerina	ダンシータンジェリン	n.d.	n.d.
C. clementina	クレメンティン	n.d.	n.d.
Miscellaneous			
C. bergamia	ベルガモット	n.d.	n.d.
C. madurensis	シキキツ	tr.	n.d.
C. halimii		tr.	-
Fortunella			
F. hindii	マメキンカン	0.130	0.014
F. crassifolia	ネイハキンカン	n.d.	n.d.
F. margarita	ナガミキンカン	n.d.	n.d.
F. japonica	マルキンカン	n.d.	n.d.
F. polyandra	ナガハキンカン	n.d.	n.d.
Poncirus			
P. trifoliata	カラタチ	1.312	6.563

a) 試料採集 1996年11月および1997年10月～1998年2月.

b) 学名は田中長三郎の分類による.

c) tr.:痕跡 (<0.001mg), n.d.: 未検出 (<0.0001mg), -: 未分析

【手続補正3】

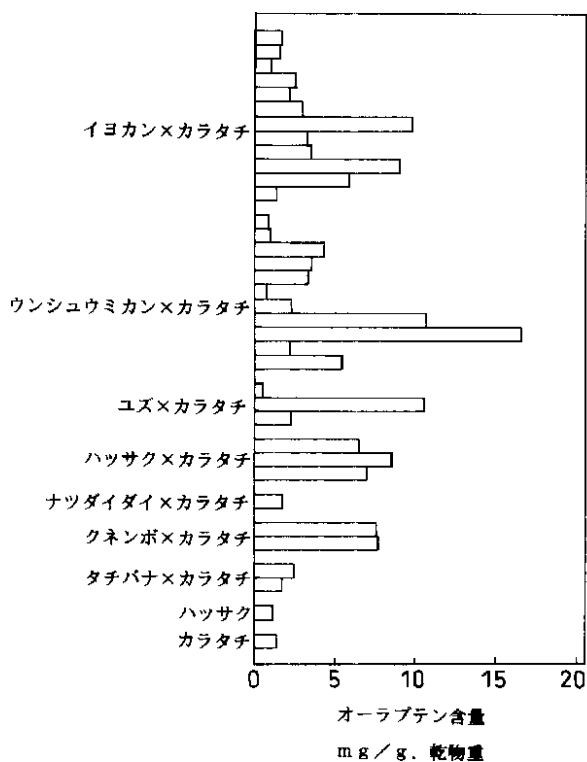
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図1

【補正方法】変更

【補正内容】

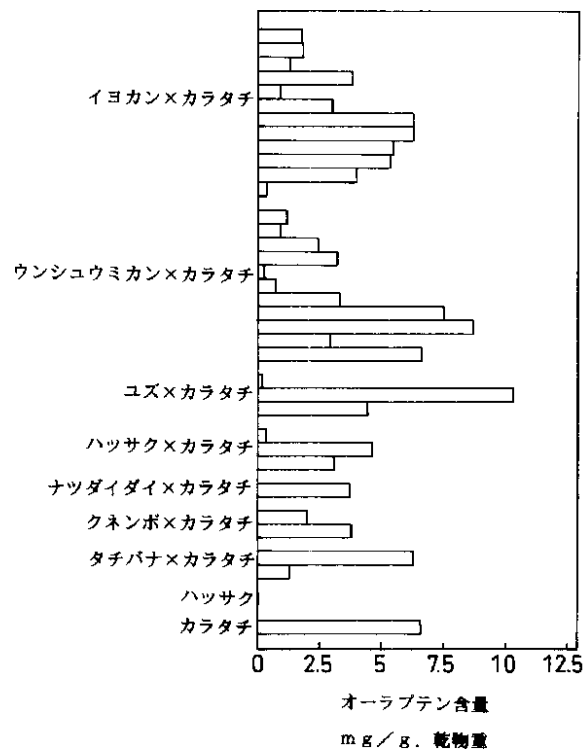
【図1】



【補正方法】変更

【補正内容】

【図2】



【手続補正4】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図2

フロントページの続き

- (72)発明者 吉田 俊雄
静岡県清水市興津本町318
- (72)発明者 根角 博久
静岡県清水市興津本町318
- (72)発明者 野々村 睦子
静岡県三島市谷田桜ヶ丘2525

- (72)発明者 川井 悟
静岡県清水市興津中町1391 - 6
 - (72)発明者 小松 晃
静岡県清水市興津中町1126 - 2
- Fターム(参考) 2B030 AA03 AB03 AD08 CA01 CB02
HA01
4C088 AB62 AC03 AC04 BA06 BA11
BA31 MA01 ZB26