

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	Safendrri Komara Ragamustari
論文題目	Characterization of <i>O</i> -methyltransferases involved in lignan biosynthesis (リグナン生合成に関与する <i>O</i> -メチルトランスフェラーゼの特性解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>リグナンは、天然物化学、植物生理学、木質科学、薬学などの分野で有用生理活性物質の生産や心材形成機構解明などの観点から興味を持たれているフェニルプロパノイド系二次代謝産物である。リグナンの生合成には未解明な点が多く残されており、特にリグナンの<i>O</i>-メチルトランスフェラーゼ (<i>O</i>-メチル化酵素) 及びリグナン生合成に用いられるモノリグノール生成系については、従前ほとんど不明であった。本論文は、抗腫瘍性リグナンの生成にあずかるリグナン<i>O</i>-メチルトランスフェラーゼ (リグナンOMT) の機能を初めて詳細に調べ、リグナンの<i>O</i>-メチル化反応の立体化学制御に関する新たな機構を見出すと共に、リグナン等の生合成に関わるモノリグノールの生成系についても新知見を得たものである。その主な内容は以下の通りである。</p>			
<p>(1) ベニバナ (<i>Carthamus tinctorius</i>) 登熟中種子に高発現している matairesinol <i>O</i>-methyltransferase (CtMROMT) の機能を解析した。すなわち、ベニバナ種子におけるリグナン蓄積、MROMT活性、並びに <i>CtMROMT</i> 遺伝子発現の時間経過、及び組換え <i>CtMROMT</i> の基質特異性について比較検討した。その結果、<i>CtMROMT</i> がジベンジルブチロラクトン型リグナンであるマタイレジノールの位置選択的メチル化を触媒し、抗腫瘍性リグナンアクチゲニンの生成に関わる酵素であることが示された。本酵素はリグナンOMTとして同定された初めての例である。</p>			
<p>(2) 3種のMROMTについて、触媒する反応の位置選択性並びに基質エナンチオマーに関する選択性について検討した。すなわち、リグナン生合成における立体化学制御機構については、コニフェリルアルコールからマタイレジノールに至るリグナン生合成の共通経路に関して解明が進んでおり、エナンチオマーの選択的生成に関し複雑な機構が報告されている。しかし、共通経路上のリグナンから派生する経路については、メチル化反応も含め立体化学制御機構はほとんど未解明であった。そこで、本研究では <i>CtMROMT</i> に加え、<i>MROMT</i> cDNA をシャク (<i>Anthriscus sylvestris</i>) 及びチョウセンレンギョウ (<i>Forsythia koreana</i>) から単離し、これら3種の <i>MROMT</i> の組換え酵素の反応性について比較検討した。その結果、<i>CtMROMT</i> と <i>AsMROMT</i> はマタイレジノールの4'位水酸基を位置選択的にメチル化しアクチゲニンを生成させるが、</p>			

FkMROMTはマタイレジノールの4位水酸基を位置選択的にメチル化しイソアクチゲニンを生成させることが示された。これら3種のMROMTによる反応生成物はいずれも光学的に純粋であり、MROMTが触媒する反応は、高度な位置選択性並びに基質エナントオマーに関する厳密な選択性を示すことが明らかにされた。

(3) 抗腫瘍性リグナンポドフィロトキシン生合成に関わる新規リグナンOMTをコードするcDNAを単離し、その組換え酵素の特性解析を行った。すなわちシャクのcDNAライブラリーのスクリーニングや次世代シーケンサー解析に基づき7種のOMT cDNAを単離した。次いで対応する組換え酵素を作成し、その反応性について検討した。その結果、これらのOMTの内の1つがツヤプリカチンの位置選択的メチル化を触媒し、5-O-メチルツヤプリカチンを生成させることが示された。マタイレジノール以降、ポドフィロトキシンに至る生合成経路の酵素遺伝子は従来全く未解明であったが、本酵素はマタイレジノールからポドフィロトキシンに至る経路に2段階存在するメチル化反応の初発段階に関わる酵素であることが示された。

(4) ベニバナ登熟中種子に高発現しているcinnamyl alcohol dehydrogenase (CtCAD)の機能を解析した。CADはケイヒ酸モノリグノール経路の最終段階を担う酵素であり、リグニン、リグナン、ネオリグナン等の生成に関わる。従来リグニン生合成に関わるCADについては多くの知見が得られているが、リグナン生合成に関わるCADについては全く未解明であった。そこで、本研究ではベニバナの3種のCAD (CtCAD1、CtCAD2、及びCtCAD3)の遺伝子発現解析ならびに組換え酵素の反応性について検討した。その結果、CtCAD2及びCtCAD3がリグニンとリグナンの生成に関与すること、及びCtCAD1はその他の機能を有することが示唆された。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

リグナンは、有用生理活性物質の生産や心材形成機構解明などの観点から興味を持たれているフェニルプロパノイド系二次代謝産物である。リグナンの生合成には未解明な点が多く残されており、特にリグナンのフェノール性水酸基の*O*-メチル化に関わる*O*-メチルトランスフェラーゼ (リグナンOMT) 及びリグナン生合成に用いられるモノリグノール生成系についてはほとんど不明であった。本論文は抗腫瘍性リグナンの生成にあずかるリグナンOMTの機能を初めて詳細に調べ、リグナンの*O*-メチル化反応の立体化学制御に関する新たな機構を見出すと共に、リグナン等の生合成に関わるモノリグノールの生成系について新知見を得たものである。評価すべき点は以下の通りである。

- 1) ベニバナの抗腫瘍性リグナンアクチゲニンの生成にあずかるリグナンOMT (マタイレジノールOMT : CtMROMT) を初めて同定した。本酵素は、リグナンOMTとして同定された初めての例である。
- 2) 3種の植物に由来するMROMT (CtMROMT、AsMROMT、及びFkMROMT) が触媒する反応は、いずれも高度な位置選択性並びに基質エナンチオマーに関する厳密な立体選択性を示すことを明らかにした。
- 3) 抗腫瘍性リグナンポドフィロトキシン生合成にあずかる新規リグナンOMTをコードするcDNAを初めて単離し、その組換え酵素の特性解析を行った。
- 4) ベニバナの3種のケイヒアルコールデヒドロゲナーゼ (CtCAD1、CtCAD2、及びCtCAD3) のうち、CtCAD2及びCtCAD3がリグニンとリグナンの生成に関与することを示唆した。

以上のように、本論文はリグナン生合成における*O*-メチルトランスフェラーゼの特性解析について初めて報告したものであり、その成果は、植物化学、天然物化学、植物生理学、及び植物資源科学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成26年2月10日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：平成26年6月20日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)