

氏名	黒田宏之 <small>くろだひろゆき</small>
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第346号
学位授与の日付	昭和56年5月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
研究科・専攻	農学研究科林産工学専攻
学位論文題目	COMPARATIVE STUDIES ON <i>O</i> -METHYLTRANSFERASES INVOLVED IN LIGNIN BIOSYNTHESIS (リグニン生合成に関与する <i>O</i> -メチル基転移酵素の比較研究)
論文調査委員	(主査) 教授 樋口隆昌 教授 島地謙 教授 葛西善三郎

論文内容の要旨

本論文はリグニン生合成における *O*-メチル基転移酵素 (OMT) の役割を明らかにするとともに、異なる植物分類群 (主として綱あるいは亜綱レベル) の維管束植物に存在する OMT を比較検討することによって、リグニンのメトキシル基と OMT の関係を明確に位置づけることを目的としている。

裸子植物の代表としてクロマツ芽生えから抽出・精製した OMT はカフェー酸 (CA) のメチル化 (FA 活性) を触媒するが、5-ヒドロキシフェルラ酸 (5-HFA) のメチル化 (SA 活性) はほとんど触媒できないことを明らかにしている。また SA 活性は CA の存在によって競争的に阻害を受けることを見出し、クロマツリグニンにシリングル単位がほとんど存在しない一因は、この OMT が事実上シリングル単位を生成できないことに由来することを証明している。

双子葉植物として10年生ポプラの木部から抽出・精製した OMT は CA, 5-HFA に対してほぼ同程度の K_m 値を持つが V_{max}/K_m 値は 5-HFA の方が約5.4倍大きく、ケルセチン、カテキン等のメチル化を触媒せず、グアイアシル・シリングルリグニンの生成に直接関与するものであることを確かめている。ヤドリギの OMT の場合もポプラの OMT と同様、グアイアシル・シリングルリグニンの生成に関与することを明らかにし、この粗酵素抽出液は FA 活性の阻害物質を含んでいることを見出している。

次に単子葉植物としてモウソウチク (タケノコ) の OMT を比活性で約100倍に精製し、その特性を明らかにしている。特に FA, SA 活性の分離を集中的に試み (ゲルろ過, イオン交換, ディスクゲル泳動, 等電点分画, 熱処理等), その結果として両活性は単一の OMT たんぱく質に属すること, また FA 活性は 5-HFA によって競争的に阻害されることも見出している。

さらに維管束植物群全体のリグニンと OMT の関係を知るため、シダ植物, 裸子植物, 被子植物の43科にわたる植物の OMT の SA 活性対 FA 活性比とリグニンの構成単位との関連性について究明し, OMT は針葉樹型の3群に大別できることを明らかにしている。特に針葉樹型は SA 活性が小さく, これ

が針葉樹リグニンにシリングル単位が、わずかしが存在しない原因の一つであること、一方、双子葉型では、その活性比が3前後、イネ科植物型では1前後で、それぞれのリグニンの構成単位の組成と対応していると結論づけている。以上のようにリグニンと OMT の関係を明らかにするとともに、植物分類の指標として OMT を用いる可能性についても考察している。

論文審査の結果の要旨

本論文はリグニンを構成するグアイアシル基およびシリングル基が *O*-メチル基転移酵素 (OMT) によって生成し、裸子、被子植物による OMT の基質特異性の差によって両植物間のリグニン構成単位の差が決定されることを明らかにしたものである。

著者はクロマツ芽生えから OMT を抽出・精製し、この酵素がカフェー酸 (CA)→フェルラ酸のメチル化 (FA 活性) を触媒するが、5-ヒドロキシフェルラ酸 (5-HFA)→シナップ酸のメチル化 (SA 活性) はほとんど触媒せず、また SA 活性は CA によって競争的に阻害されることを見出し、クロマツリグニン中にほとんどシリングル単位が存在しない一因は OMT のこの性質によることを明らかにしている。

次に双子葉植物としてポプラの OMT を抽出・精製し、CA、5-HFA はともにこの OMT のよい基質であるが、特に後者の V_{max}/K_m 値は前者の約5.4倍で、この性質がグアイアシルリグニン・シリングルリグニンの生成に直接関与していることを明らかにしている。また単子葉植物としてモウソウチクのタケノコから OMT を抽出・精製し、その酵素特性を明らかにしている。すなわち、この OMT はポプラの OMT と同様に FA、SA 両活性を持ち、ゲルろ過、イオン交換、ディスクゲル電気泳動、等電点分画、熱処理などによっても分離できないことから、両活性が単一のたんぱくに属していることを明らかにしている。

さらに著者はシダ植物、裸子植物、被子植物等43科にわたる植物の OMT について FA・SA 活性を測定し、これらの植物 OMT が針葉樹、広葉樹、イネ科植物リグニン型の3群に大別でき、酵素の基質特異性と従来から知られている針葉樹・広葉樹・イネ科植物リグニンの3型の生成との間に関係のあることを明らかにしている。

以上のように本論文は種々の維管束植物中のリグニンのメトキシル基の生成とメチル基転移酵素の基質特異性との間に密接な関係のあることを明らかにしたもので、リグニン化学ならびに林産工学の分野に貢献するところが大きい。

よって本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。