

氏 名	さかき 榊 ばら 原 のり 紀 かず 和
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1514 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	Metabolic Analysis of the Cinnamate / Monolignol and Lignan Pathways (ケイヒ酸／モノリグノール経路及びリグナン経路の代謝解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 島 田 幹 夫 教 授 關 谷 次 郎 教 授 坂 田 完 三

論 文 内 容 の 要 旨

近年の地球環境の悪化により、化石資源に代わり再生産可能な資源の重要性がますます増大している。再生産可能資源のうち、最多蓄積量を有するものは木質であり、そのほとんどが二次木部である。そこで、二次木部形成と関連した成分の生成機構の解明が今後ますます重要になってくると考えられる。二次木部成分の生成は、細胞壁形成と心材形成に関与するものであり、両代謝過程においては、いずれもフェニルプロパノイド生合成が重要な位置を占めている。すなわち、細胞壁形成ではリグニン、心材形成ではリグナンやノルリグナンなどの生合成があげられる。また、フェニルプロパノイドの生合成については、近年研究が飛躍的に進展しているが、なお、未解明な点が多々残されている。例えば、フェニルプロパノイド代謝は、いわゆる格子状生合成経路に含まれる可能性があり、ケイヒ酸／モノリグノール経路とリグナン経路において、生理的に主要な代謝経路を特定することは難しい問題であった。

そこで本論文では、この研究課題に適したモデル植物としてシャク (*Anthriscus sylvestris*) とベニバナ (*Carthamus tinctorius*) を用いて安定同位体標識前駆体の投与実験と代謝物の網羅的解析とを組み合わせた実験をケイヒ酸／モノリグノール経路とリグナン経路の解析に適用し、これらの経路に存在する格子状の様々な経路の中から生理的に妥当な代謝経路を特定することを試みたものである。

本論文の研究内容は以下のようにまとめられる。

1. シャクにおけるヤテインの生合成機構：

心材は、草本植物には存在しないが、木本植物(樹木)に見られる特有の形質である。しかし、樹木の心材形成機構を直接的に解明することは現段階ではきわめて難しい問題であり、心材成分の生成機構もほとんど明らかにされていない。心材に特異的に蓄積する二次代謝産物(心材物質)の生合成調節機構を解明すれば、心材形成の分子機構に関する多くの知見が得られるものと期待される。一方、代表的な心材リグナンとしてヤテインがあげられるが、ヤテインはまた抗腫瘍リグナンであるポドフィロトキシンの生合成前駆体としても重要である。そこでまず、モデル植物としてシャクに含まれるヤテインに注目し、そのリグナン生合成機構の解明を目的として実験を行った。

本研究を開始した当時、高等植物におけるマタイレジノールからヤテインに至る代謝経路には様々な格子状の経路の可能性があり、どの代謝経路が生理的に妥当な経路であるか全く未解明であった。そこで、マタイレジノールからヤテインに至る全ての可能な前駆体及びそれらの中間代謝物の網羅的解析を行った結果、以下のような新知見を得ることができた。

- 1) 重水素標識リグナン及び ^{13}C -フェニルアラニンを投与した後、これらの安定同位体の取り込み状況について網羅的に解析することにより、マタイレジノールからヤテイン及びブルセヘルニンに至る二つの経路が存在することを明らかにした。
- 2) 複数の標識化合物の競合投与実験によりマタイレジノールからブルセヘルニンに至る分岐経路がヤテインには至らないことを証明し、ヤテイン生合成経路を確立した。

従来、格子状の多数の生合成ルートが考えられる中で、生理的ルートを特定することはきわめて困難であった。しかし、本研究では考えられる全ての各種中間代謝物に対応する安定同位体標識化合物の投与実験とそれに続く代謝物の網羅的解析を行うことにより、生理的ルートを特定することができた。さらに、本項で確立された手法はベニバナにおけるケイヒ酸／モノリグノール経路の代謝解析研究に適用された。

2. ベニバナにおけるケイヒ酸／モノリグノール経路の代謝解析：

過去10年余りの間に、ケイヒ酸／モノリグノール経路の分子生物学に関する研究は、リグニン生合成との関連で格段に進展してきた。一方、リグナンの前駆物質でもあるコニフェリルアルコールの生合成ルートについては全く未解明であった。

そこで、前項で確立した代謝解析系をこの経路に適用し、リグニン生合成に含まれる生理的ルートの特定を試み以下のような結果を得ることができた。

- 1) ケイヒ酸／モノリグノール経路上のほとんど(15種)の中間代謝物につき、GC-MSを用いた安定同位体希釈法に基づく代謝解析系を確立した。
- 2) この系を、既に当研究室でリグナンとリグニンをともに産生することが見出されていたベニバナの登熟中種子に適用し、代謝中間体の代謝解析を行うことができた。かつ、標識様式の異なる複数の前駆体を同時に投与する、競合投与実験を行うことにより、リグニン生合成とリグナン生合成に関与するフェニルプロパノイド代謝経路が部分的に異なることを初めて見出した。

論文審査の結果の要旨

樹木生理学、木質利用学及び天然物化学などの観点から興味を持たれているリグニン及びリグナンの生合成に含まれるフェニルプロパノイド代謝経路については、近年研究が進展しているが、未解明な点が多々残されていた。特にケイヒ酸／モノリグノール経路及びマタイレジノールからヤテインに至るリグナン経路は、いわゆる格子状経路の中に組み込まれていると想定されており、生理的に正しいと思われる代謝ルートを決定することはきわめて難しい問題であった。本論文は、安定同位体標識前駆体の投与実験と各種代謝物の網羅的代謝解析とを組み合わせた実験をケイヒ酸／モノリグノール経路とリグナン経路の解析に適用し、関係する格子状経路の中から主要な生理的ルートを特定しようと試みたものであり、評価すべき点は以下の通りである。

- 1) リグナン経路上の中間代謝物である、マタイレジノールからヤテインに至る全ての可能な前駆体(8種)につき、非標識体と3個以上の重水素で標識した標品をそれぞれ合成し、さらにケイヒ酸／モノリグノール経路上のほとんどの中間代謝物(15種)についても、非標識体及び重水素標識体を合成した。従来、ケイヒ酸／モノリグノール経路上の非標識化合物の合成については、個別に報告されているが、標識体を含め系統的に合成した例はなく、今後、各種植物体におけるフェニルプロパノイド代謝解析研究に応用可能であると考えられる。
- 2) マタイレジノールからヤテインに至る全ての可能な中間代謝物(8種)につき、GC-MSを用いた安定同位体希釈法に基づく代謝解析系を確立した。さらに、それを安定同位体標識体の投与実験と組み合わせることによって、シャク(*Anthriscus sylvestris*)のリグナン生合成におけるヤテイン生成経路を確定した。
- 3) 同様に、ケイヒ酸／モノリグノール経路上のほとんどの可能な中間代謝物(15種)についても、安定同位体希釈法に基づく代謝解析系を確立した。この系を安定同位体標識体の投与実験と組み合わせることによって、ベニバナ(*Carthamus tinctorius*)の登熟中種子におけるリグニン合成とリグナン合成とでは、ケイヒ酸／モノリグノール経路における生理的ルートが異なることが明らかとなった。

以上、本論文は高等植物におけるリグニンとリグナンの生合成研究において、生理的に妥当なケイヒ酸／モノリグノール経路とリグナン経路を特定するための代謝解析実験法を確立したものであり、樹木代謝化学、植物生理学、及び木質天然物化学へ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17年2月17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。