

(論文内容の要旨)

根茎に抗炎症, 肝機能改善などの様々な健康効果があるクルクミノイド色素を蓄積しているウコン (*Curcuma longa*) は, 古くから漢方薬や食用色素の原料として用いられており, 近年では健康食品としても人気が高い. しかし, 製品の市場性が高いにも拘らず, 安定した品質のウコン原料を得る試みはあまり進んでいない. そのため, 品質が良いウコン原料を安定的に供給することを目指し, ウコンの組織培養の条件について検討を行ない, 併せて, 未だ解明されていないクルクミノイドの生合成について調査を行なった. 得られた結果は以下のように要約される.

1. 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 1 mg/L, ベンジルアデニン(BA) 1mg/L を含む液体培地で増殖培養, ナフタレン酢酸 1 mg/L, BA 10 mg/L を含む液体培地で色素生産培養を行なうことにより, ウコン細胞塊に色素細胞を形成させ, クルクミノイドを生産させる系を構築することができた.

2. ウコン細胞塊が蓄積していた 3 種類の未知化合物の同定を行ない, それぞれがクルクミノイドの脂肪鎖部分の 2 つの二重結合のうちの 1 つが還元された構造のジヒドロクルクミノイドであることを明らかにした. その中のジヒドロデスメトキシクルクミン-a (dihydroDMC-a) は, これまで報告されていない新規化合物であった. 細胞塊はクルクミノイドの約 30 倍のジヒドロクルクミノイドを蓄積していた. ジヒドロクルクミノイドはクルクミノイドと同程度の抗酸化能を持ち, クルクミノイドに比べて黄色が薄いために, 食品素材としての利用の幅が広がる可能性があったが, 実用化に際しては, 効率的な生産が課題となるものと考えられた.

3. ウコンの根茎以外の部位におけるクルクミノイドおよびジヒドロクルクミノイドの分布を明らかにした. ウコン根茎はクルクミノイドを多く含有していたが, 葉と根では反対に, ジヒドロクルクミノイドを多く含有していた. また, ウコン根茎では dihydroDMC の 2 種類の構造異性体である dihydroDMC-a と b の両方を含有していたが, 葉, 根では dihydroDMC-a のみを含有しており dihydroDMC-b をほとんど含有していなかった.

4. 生育段階が斉一なウコン幼植物体を供給できる培養系を構築し, その幼植物体を供試材料として, 根茎を効率的に培養してクルクミノイドを生産するための条件検討を行なった. 高濃度の糖を含む培地で培養することにより, クルクミノイドを蓄積する肥大根茎を得られるようになったが, 同時に不必要な葉や根も大きくなってしまい, 非効率だという問題点が残った.

5. クルクミノイド生合成経路解明のため, ウコン培養植物体に標識化合物を取り込ませる実験を行ない, クルクミノイド骨格がシキミ酸経路由来の 2 分子と酢酸-マロン酸経路由来の 1 分子から生成されることを明らかにした. また従来, フラボノイド生合成経路やクルクミノイドの構造からの類推から, クルクミノイド生合成の基質は *p*-クマル酸 CoA やフェルラ酸 CoA と思われており, ケイヒ酸 CoA が基質となる可能性は論じられてこなかった. しかし, ケ

イヒ酸, *p*-クマル酸, フェルラ酸およびそれらの CoA 誘導体の取り込み結果から, クルクミノイド生合成の基質が, ケイヒ酸 CoA である可能性を示唆した.

さらに、クルクミノイド類の生合成の場を明らかにするために、ウコンの各部位を単独で培養しながら標識化合物を添加する方法で取り込み実験を行なった. その結果, 根ではジヒドロクルクミノイドが活発に生合成されていることが明らかになった. 根茎でクルクミノイドが生合成されているという確実な証拠は得られなかったが, 今回の結果のみでは生合成の可能性を完全に否定することはできなかった. 生合成されていないことを示す結果も出なかった.

(論文審査の結果の要旨)

近年、ウコンの市場性が高まっているが、安定した品質のウコン原料を得る試みはあまり進んでいない。また、ウコンの有効成分クルクミノイドの作用機作や摂取時の代謝経路については研究が進んでいるが、ウコン植物体中での生合成経路については研究が進展しておらず、未解明であった。本論文は、高品質ウコン原料の安定生産に向けて様々な試みを行ない、生産実用化までの課題を明らかにするとともに、高品質原料の作出につながる重要な情報であるクルクミノイドの生合成について解明を試みたものである。評価される点は以下の通りである。

1. ウコン細胞塊によるクルクミノイド生産系を初めて作出するとともに、蓄積していた未知化合物の同定を行ない、これらが新規化合物を含むジヒドロクルクミノイドであることを明らかにした。

2. これまで情報がなかったウコンの根茎以外の部位のクルクミノイドおよびジヒドロクルクミノイドの分布について明らかにした。

3. 栄養繁殖であるため生育段階が斉一な植物体を得にくいウコンにおいて、斉一なウコン植物体を供給できる培養系を構築するとともに、培養での根茎肥大およびクルクミノイド生産を可能にした。斉一な実験材料の供給やクルクミノイド蓄積の制御が可能な培養系を構築したことは、ウコンおよびクルクミノイドに関する今後の研究の発展に寄与するものと考えられる。

4. 取り込み実験の結果から、クルクミノイド骨格がシキミ酸経路由来の 2 分子と酢酸-マロン酸経路由来の 1 分子から生成されることを明らかにした。長い間推測のままだったクルクミノイド生合成経路に関して、明確な実験結果に基づいた証明を初めて行なった点が高く評価される。

5. ケイヒ酸、 p -クマル酸、フェルラ酸および、その CoA 誘導体の取り込み結果から、クルクミノイド生合成の基質が、ケイヒ酸 CoA である可能性を示唆した。これまでは、ほかのフェニルプロパノイド同様、クルクミノイドの生合成にもケイヒ酸 CoA が関与している可能性は低いと考えられ、検討がほとんど行われておらず、今回得られたデータにより新たな合成経路の可能性を示唆したことは高く評価される。

以上のように本論文は、ウコンの培養によるクルクミノイド生産系の構築と、その生産系を利用してクルクミノイド生合成経路を解明したものであり、蔬菜園芸学および植物の有用物質の生産の研究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 21 年 2 月 16 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。