

氏 名	まつ かわ てつ や 松 川 哲 也
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1250 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 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	エンバクにおけるファイトアレキシン avenanthramide 類の生合成に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 池 田 篤 治	教 授 桑 原 保 正	教 授 坂 田 完 三
--------	----------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

病原菌の感染に対する一連の抵抗反応の過程でエンバク (*Avenasativa* L.) はファイトアレキシンとしてアベナンスラミド類を生成、蓄積する。またその生成は、菌類の細胞壁成分キチンの分解物である *N*-アセチルキトオリゴ糖などのエリシターによっても誘導される。本物質はヒドロキシ桂皮酸とヒドロキシアントラニル酸から構成されるアミド化合物であり、ヒドロキシ桂皮酸はフェニルアラニンに由来するフェニルプロパノイド代謝経路によって生合成され、ヒドロキシアントラニル酸はアントラニル酸に由来することが前駆物質の取り込み実験から示されている。また、エリシター処理によってアミド結合の生成を触媒する hydroxycinnamoyl-CoA:hydroxyanthranilate *N*-hydroxycinnamoyltransferase (HHT) 活性やフェニルプロパノイド生合成系酵素の活性の誘起が明らかにされている。一方、アベナンスラミド類はエンバクの種子中にも構成的に存在することが知られている。そこで、本研究では種子からの HHT 活性の検出を試みた。さらに、エリシター処理葉と種子から HHT の精製を行い、各精製酵素のアイソザイム組成についてその特徴を解析した。また、前駆物質であるアントラニル酸とヒドロキシ桂皮酸は共にシキミ酸経路に由来するコリスミ酸から生合成される。したがって、コリスミ酸からアントラニル酸を生成する酵素 anthranilate synthase (AS) およびコリスミ酸からヒドロキシ桂皮酸に向かう経路の初発酵素 chorismate mutase (CM) は、アベナンスラミド類生合成の制御に関与していると想定された。そこで、エリシター処理葉でのこれら酵素についてその誘導様式ならびにその特性を明らかにした。本論文の主な内容は以下の通りである。

1. 種子中に構成的に存在するアベナンスラミド類とエリシター処理により誘導されるアベナンスラミド類とではその組成が異なることを明らかにした。また、種子中に構成的な HHT 活性の存在を見いだした。さらに、詳細な酵素の分離、精製によって HHT には少なくともアイソザイム二種が存在し、その組成が種子とエリシター処理葉とでは異なることから、HHT の発現は種子とエリシター処理葉とで異なる制御を受けていると結論した。
2. アベナンスラミド類の一構成要素であるアントラニル酸は AS によってコリスミ酸から生合成される。そこで、エリシター処理葉における AS 活性の測定を行い、その活性が処理により顕著に増大することを認めた。また、エリシターとして用いた *N*-アセチルキトオリゴ糖の重合度や処理濃度と AS 活性化との関係が従来の報告にあるアベナンスラミド類蓄積との関係と相関していたことから、AS 活性の誘導がアベナンスラミド類の生合成の制御に関与することを証明した。さらにエリシター処理エンバクの第一葉から AS を精製し、その特徴解析を行った。その結果、アベナンスラミド類生合成にフィードバック感受性 AS 関与の可能性が明白となった。また、エリシター処理葉中のアントラニル酸の濃度変化がないこと、アントラニル酸の投与でアベナンスラミド類の蓄積が増大することから、AS がその生合成の律速段階であると結論した。
3. コリスミ酸からヒドロキシ桂皮酸へ向かう経路の初発酵素である CM について検討したところ、期待通りエリシター処理による活性増大を認めた。また、AS の場合と同様にエリシターの重合度や処理濃度と CM 活性との関係がアベナンスラミド類の蓄積との関係と相関していた。これらの結果から、アベナンスラミド類はコリスミ酸以降の全生合成系の活性化

に基づき生合成されると結論した。また、エンバクには少なくとも CM アイソザイム二種が存在し、一方のアイソザイムのみがエリシター処理による誘導を受けることを証明した。さらに、いずれの CM アイソザイムもプラスチドに存在し、フィードバック非感受性で、従来報告にある CM と異なる性質を示した。

論文審査の結果の要旨

エンバクのファイトアレキシンであるアベナンスラミド類は、植物に普遍的に分布する二次代謝化合物アントラニル酸とヒドロキシ桂皮酸を前駆物質として生合成される。そのため、その生合成の制御機構を解明することは、植物生理学の知見のみならず耐病性作物の育種など、応用的観点からも重要であると考えられる。本論文はエンバクにおけるアベナンスラミド類生合成の制御機構を明らかにするため、その生合成酵素群三種の動態を検討し、加えてそれらの性状を解明したものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1. アベナンスラミド類生合成経路の最終段階で働く酵素 hydroxycinnamoyl-CoA:hydroxyanthranilate *N*-hydroxycinnamoyltransferase (HHT) の活性がエンバク種子に構成的に存在していることを明らかにした。また、少なくとも二種のアイソザイムが存在し、エリシター処理葉と種子とではそのアイソザイム組成の異なることを見いだした。このことから、種子とエリシター処理葉とでそれぞれの HHT は異なる制御を受けていると結論した。

2. シキミ酸経路上のコリスミ酸からアベナンスラミド類の構成要素であるヒドロキシアントラニル酸の生合成へと分岐する経路の初発酵素 anthranilate synthase (AS) の活性がエリシター処理によって顕著に誘導される事実を認め、エリシター処理によるアベナンスラミド類蓄積に AS 活性の誘導が関与する事実を見いだした。また、フィードバック感受性型 AS がアベナンスラミド類生合成に関与している事実を明らかにし、さらに AS がアベナンスラミド類生合成の律速段階となっている基幹酵素であると結論した。

3. コリスミ酸からアベナンスラミド類の構成要素の一つであるヒドロキシ桂皮酸の生合成へと分岐する最初の反応を触媒する酵素 chorismate mutase (CM) の活性がエリシター処理によって増大する事実を認めた。このことによりエリシター処理によるアベナンスラミド類の蓄積現象はコリスミ酸以降の全生合成経路の活性化の結果によることであると結論した。また、エンバクには少なくとも CM アイソザイムが二種存在し、その一方のみがエリシター処理によって誘導される現象を認めた。さらに、これら CM アイソザイムの性状解析により、いずれのアイソザイムもプラスチドに存在し、フィードバック非感受性で、従来報告にない新規な CM であると結論した。

以上のように本論文はエンバクのファイトアレキシンであるアベナンスラミド類の生合成機構を天然物化学的および生理学的に精査したものであり、生物有機化学、植物生理学、天然物化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14年2月14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。