

氏 名	おかざきようぞう 岡 咲 洋 三
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1505 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	エンバクファイトアレキシン、アベナンスラミド類の代謝に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教授 西 岡 孝 明 教授 關 谷 次 郎 教授 宮 川 恒

論 文 内 容 の 要 旨

植物は病原菌の感染に対して様々な防御応答を発現する。このような防御応答の一つに抗菌性二次代謝産物、ファイトアレキシンの蓄積がある。エンバクは病原菌の感染に対し、ファイトアレキシンとしてアベナンスラミド類を蓄積する。これまでに標識化合物の取り込み実験や、生合成酵素活性の測定、生合成酵素の遺伝子の単離などアベナンスラミド類の生合成機構が明らかにされつつある。これらの研究からアベナンスラミド類の代謝系も存在し、代謝されることによってファイトアレキシン以外の生理的機能を果たしていることが示唆された。本研究はアベナンスラミド類の代謝系を見つけ、その機構と生理的意義について検討したものである。その主な内容は以下の通りである。

1. 同位体標識アベナンスラミド類をエンバクに投与し、アベナンスラミド類が代謝されることや、エリシター処理は代謝を活性化することを明らかにした。さらに、投与した標識アベナンスラミド類の濃度変化を LC/MS で詳細に解析することで、アベナンスラミドごとに生合成速度と代謝速度を測定した。その結果、化合物により代謝速度、生合成速度が異なり、アベナンスラミド B はその蓄積量から想定されるより速く生合成されると同時に速く代謝されていることを明らかにした。

2. 放射性同位元素標識アベナンスラミド類の取り込み実験によって、アベナンスラミド類が細胞壁に取り込まれ、高分子化合物を形成して細胞壁成分と結合することを明らかにした。また、エリシターで処理したエンバクの細胞壁は分解酵素に耐性となった。すなわち、アベナンスラミド類はエンバクの化学的防御と物理的防御の2つの機能を併せ持つことになる。

3. ペルオキシダーゼ阻害剤がアベナンスラミド類の代謝を抑制することおよびエリシター処理によりアベナンスラミド類を基質とするペルオキシダーゼ活性が誘導されることを示し、アベナンスラミド類の代謝には誘導性ペルオキシダーゼが関与することを明らかにした。また、ペルオキシダーゼ活性の誘導は特に細胞壁画分において顕著であったことから、主にアポプラストにおいてアベナンスラミド類が代謝されていることが示唆された。さらに、このエリシター処理によるペルオキシダーゼ活性の増大は、新たなアイソザイムの誘導によることを示した。

4. エリシター処理や病原菌の接種を行ったエンバクの葉に、アベナンスラミド類の代謝物であるアベナンスラミド B の二量体が複数蓄積することを見出した。部位特異的に炭素13で標識した化合物の合成と化学的誘導化によって、これらの化合物をアベナンスラミド B のデヒドロダイマーおよびその水和物と同定した。これらの化合物は新規骨格を持つリグナナミドに分類される。アベナンスラミド B の二量体はアベナンスラミド B より強い抗菌活性を示した。したがって、アベナンスラミド B のデヒドロダイマーやその水和物はアベナンスラミド類とともに病原菌の感染の阻止に寄与していると推定された。さらに、エリシター処理によって誘導されたアベナンスラミド B のデヒドロダイマーやその水和物の蓄積量は最大に達した後、減少した。このことから、アベナンスラミド類とともに二量体が細胞壁に取り込まれ、蓄積する高分子化合物の構成単位となっていることも推定された。

論文審査の結果の要旨

アベナンスラミド類はエンバクファイトアレキシンであり、その抗菌活性によってエンバクの病害抵抗反応に寄与していると考えられている。一方で、これまでに行われた研究から、アベナンスラミド類には代謝系が存在することが示唆されてきた。本研究はアベナンスラミド類の代謝機構を詳細に調べ、ファイトアレキシンの代謝過程がエンバクの病害抵抗反応において果たす役割について明らかにしたものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 同位体標識アベナンスラミド類の投与実験により、アベナンスラミド類の代謝機構の存在を明らかにした。さらに、LC/MS 分析と同位元素標識アベナンスラミド類の利用を組み合わせ、その生合成および代謝速度を測定する方法を確立し、化合物ごとに生合成と代謝のバランスが異なることを明らかにした。
2. 放射性同位元素標識アベナンスラミドを用いたトレーサー実験により、代謝されたアベナンスラミド類は細胞壁に高分子として取り込まれることを見出した。そして、このアベナンスラミド類の細胞壁への取り込みはフェノリクスの集積による細胞壁の強化と関連するものであることを示した。
3. ペルオキシダーゼ阻害剤がアベナンスラミド類の代謝を抑制することやエリシター処理によりアベナンスラミド類を基質とするペルオキシダーゼ活性が細胞壁画分で誘導されることを明らかにし、誘導性のペルオキシダーゼによりアベナンスラミド類が細胞壁で代謝されることを示した。
4. エリシター処理や病原菌を接種したエンバクに、アベナンスラミド B の二量体が複数蓄積することを見出し、化学的誘導化と分光学的手法によって新規の骨格を有するリグナナミドと決定した。また、見出された二量体はアベナンスラミド B より強い抗菌活性を有することを示し、アベナンスラミド B の二量体がアベナンスラミド類とともに病原菌の感染阻止に寄与する可能性を示唆した。同時に、これらのアベナンスラミド B の二量体はアベナンスラミド類とともに細胞壁に取り込まれて、蓄積する高分子化合物の構成単位となっていると推察した。
5. ファイトアレキシンを含む植物の二次代謝産物の代謝に関する研究は、生合成研究と比較するとあまり行われていなかった。アベナンスラミド類の代謝が植物において化学的防御と物理的防御という2つの機能を担っていることをはじめて示した。

以上のように、本論文はアベナンスラミド類の代謝について研究することによって、アベナンスラミド類が従来から考えられていたようにファイトアレキシンとして機能するだけでなく、代謝されることによって細胞壁の物理的強化や新たな抗菌活性物質の生成に関与し、その結果、多面的に病害抵抗反応に関与していることを明らかにしたものであり、生物有機化学、生物調節化学、植物生理学、植物病理学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。