

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	博(医歯薬)甲第 4 号	氏名	趙 平
学位審査委員	主 査	河野 功	
	副 査	芳本 忠	
	副 査	河野通明	
	副 査	山田耕史	
論文審査の結果の要旨			
<p>申請者は、コルク組織を応用し、クララ培養細胞における有用物質である sophoraflavanone G (SFG) の生合成経路の解明などに関する検討を行い、学位論文(主論文)「コルク組織を用いての、植物培養細胞における二次代謝産物の生合成研究」をまとめ、主論文の基礎となる原著論文 4 編と副論文 1 編を添付し、平成 17 年 1 月、博士(薬学)の学位を申請した。医歯薬学総合研究科教授会は同年 2 月 2 日の定例教授会において論文内容の要旨、資格等を検討した結果、受理を決定し、上記の論文審査担当者を選出した。</p> <p>審査担当者は、その内容を慎重かつ厳正に審議した上で、2 月 9 日に開催された学位論文公開審査会において試問を行った。さらに、申請者に対して、主論文の内容、関連科目についての口頭(又は筆答)諮問および英語の理解力に関する審査を行った。</p> <p>1 研究目的の評価</p> <p>高等植物が生産するプレニルフラボノイド類はさまざまな生理活性を有することが知られている。中でも、マメ科植物クララに含まれるラバンドリル基という分岐したプレニル側鎖を有するフラバノンである SFG は抗菌性や抗癌性などの生理活性を有することが近年相次いで報告され、新たな薬用物質として注目されている。植物生態環境を破壊することなく SFG を安定かつ効率的に得るためには、その生合成経路を明らかにすることが必要である。しかし、SFG はクララ植物体に微量しか蓄積されないため、クララ培養細胞系を活用してその効率的生産を検討することが必要である。本研究は、コルク組織を応用することによって、SFG の生理活性発現に密接に関与するラバンドリル基の生合成機構を明らかにしつつ、その効率的生産を図るとともに、コルク組織の他の脱分化植物培養系における有用二次代謝産物生産への応用としたもので、目的は十分に妥当である。</p>			

## 2 研究手法に関する評価

植物培養細胞における二次代謝産物の生産調節には、ストレス性生合成促進因子であるジャスモン酸メチルや酵母エキスなどのエリシターがしばしば用いられているが、コルク組織を添加することによってクララ培養細胞における SFG の生産が顕著に促進されることが明らかにされている。本研究は、クララ培養細胞にコルク組織を添加するという独特な手法を用い、通常培養条件下に微量しか蓄積されない二次代謝産物生合成中間体を大量に単離することや、少量の培養細胞材料を用いてのそれらの生合成研究をすることができるようデザインし、さらに種々の化学的手法（各種カラムクロマトグラフィーによる化合物の単離精製、二次元 NMR を含む各種スペクトルデータによる構造決定および HPLC による定量分析）や生化学的解析法（ $^{13}\text{C}$  安定同位体標識法、 $^{14}\text{C}$  放射同位体標識法、酵素の生化学、スクロース密度勾配遠心法による各オルガネラの分画）で解析したもので、研究手法も妥当である。

## 3 解析・考察の評価

上記手法で解析した結果、コルク組織を使用することによって、通常培養条件下ではクララ培養細胞に極微量しか蓄積されない SFG 生合成中間体である leachianone G を大量に単離することができ、一方、ラバンドリル基中の二つのイソプレニル単位は近年明らかにされた 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate 経路によって生合成されることを明らかにした。さらに、SFG 生合成経路を特定し、その生合成には (2*S*)-naringenin がプラスチドでプレニル化を受けた後、ER で 2' 位が水酸化され、次に再度プラスチドで次のプレニル化を受けることを明らかにした。この SFG 生合成の最終段階のプレニル化反応を触媒する酵素である leachianone G 2'-dimethylallyltransferase は芳香族化合物をプレニル受容体とするプレニルトランスフェラーゼや、GPP synthase のようなプレニル伸長酵素とは異なり、本酵素が芳香環に結合したプレニル側鎖に分枝上に新たなプレニル単位を伸長させるという特徴があることから、これまでに例を見ない新しいプレニル伸長酵素であり、その分子生物学的研究への進展が期待される。本研究によって、コルク組織の使用は、植物培養細胞系を用いての脂溶性二次代謝産物の生産に有効な手法であるとともに、その生合成機構の解明にも有効な方法であることが示された。

また、コルク組織の添加によるカエサルピニア培養細胞におけるホモイソフラボノイドの生産促進効果も認められた。今後コルク組織の他の植物培養細胞系における脂溶性二次代謝産物の生産調節やそれらの生合成研究への更なる応用が大いに期待される。

以上のように本論文はクララ培養細胞における SFG の効率的生産や植物培養細胞を用いての脂溶性二次代謝産物の生産調節およびその生合成研究に貢献するところが大きく、審査委員は全員一致で博士（薬学）の学位に値するものと判断した。