

(様式11)

論文審査の要旨 (課程博士)

生物システム応用科学府長 殿

審査委員 主査 梶田 真也 准教授 ㊞

副査 佐藤 令一 教授 ㊞

副査 豊田 剛己 教授 ㊞

副査 川合 伸也 准教授 ㊞

副査 梅澤 泰史 准教授 ㊞

学位申請者	<u>循環生産システム学専修 専修 平成 24 年度入学 学籍番号 12701302</u> 氏名 田村 尚之
申請学位	博士 (農学)
論文題目	細菌の酵素遺伝子を利用した植物のリグナン生合成の改変に関する研究

論文審査要旨 (2,000 字程度 or 500words)

リグナンはモノリグノール生合成経路の中間体および生成物であるヒドロキシケイヒ酸類やヒドロキシケイ皮アルコール類 2 分子が 8-8 炭素間で重合した 2 量体の総称であり、植物から溶媒により抽出される成分の一種である。リグナンは抗酸化活性、抗ウイルス活性、抗腫瘍活性などの様々な生理活性作用を有する分子種が報告されており、抗ガン剤の原料や、生薬・漢方薬に含まれる薬理作用を有する分子種、健康食品の有効成分などに利用されている。リグナンは生合成経路を有し、植物細胞内で更に変換されて多様な分子種を生成する。最も多くの研究が進められているピノレジノールからラリシレジノール、セコイソラリシレジノールなどを生成する経路においては、抗ガン剤の原料となるポドフィロトキシンや、抗ウイルス活性が報告されているアルクチゲニンなどの有用な分子種が下流に位置することが報告されており、研究が進められている。本研究では、このピノレジノール・ラリシレジノール生合成経路に着目し、遺伝子工学的手法を用いてリグナンの蓄積量及び組成を改変することを目的とした。植物のリグナンを変換する酵素はこれまで多数報告されており、植物中に含まれるピノレジノール・ラリシレジノール生合成経路に位置する酵素遺伝子の発現量を変化させた研究や、他の植物由来の酵素遺伝子を導入することで、蓄積量や組成が変化することが数例報告されている。また、リグナンを変換する細菌の存在がこれまで報告されている。しかしながら、細菌由来の酵素遺伝子を植物に導入し、リグナンの蓄積量や組成を改変した事例はこれまで報告されていない。近年、 α -プロテオバクテリアに属する、*Sphingobium paucimobilis* SYK-6 株からピノレジノールを変換する酵素遺伝子(*pinZ*)が単離された。*PinZ* はこれまで報告されてきた、植物由来のピノレジノール・ラリシレジノールを変換する酵素と比較して、ピノレジノールをラリシレジノールへと変換する比活性が高いことが報告されている。また、今後リグナンを変換する細菌から、有用な酵素遺伝子が単離される可能性がある。そこで本研究では SYK-6 由来の *PinZ* を植物細胞内で生産させることで、リグナンの蓄積量や組成を改変することを目的とした。また、細菌の酵素遺伝子を導入することで、植物の遺伝子発現や他の二次代謝産物の変化について言及した。

研究の結果、植物細胞内で *PinZ* が生産され、活性を有していることが示唆された。また、リグナンの蓄積量や組成についてシロイヌナズナを用いて解析したところ、*PinZ* の上流に位置する分子種が顕著に減少していることが示唆された。更に、*PinZ* の下流に位置する、ラリシレジノールの配糖体やセコイソラリシレジノールの配糖体が増加していることが示唆された。一方でリグナン全体の量は大きく変化しなかった。遺伝子の発現解析においては、*pinZ* を導入した組み換え系統の茎において、フラボノイドに関連する酵素遺伝子

の発現量が減少していることが示唆された。更に、メタボローム解析の結果、抗ガン作用を有するグルコブラシジンや、4-メチルグルコブラシジンなどのグルコシノレートが増加していることが示唆された。以上の結果から、バクテリア由来のリグナンを変換する酵素遺伝子によって、植物中のリグナンの組成が顕著に変化していることが示唆された。また、他の抽出成分にも顕著な変化を与えていることが示唆された。