

学位論文審査の結果の要旨

氏名	宇部 尚樹
審査委員	主査 石原 亨 (印)
	副査 上野 誠 (印)
	副査 上野 琴巳 (印)
	副査 松井 健二 (印)
	副査 一柳 剛 (印)
題目	Constitutive and inducible defensive metabolites in <i>Hordeum</i> species and wheat.
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>植物は病原菌感染に対する様々な防御機構を有している。抗菌性二次代謝産物の蓄積もそのような防御機構の一つである。植物の抗菌性二次代謝産物はファイトアンティシピンとファイトアレキシンに分類される。ファイトアンティシピンは構成的に蓄積している抗菌性物質であり、ファイトアレキシンは病原菌感染に応答して蓄積してくる抗菌性物質を指す。</p> <p>イネ科オオムギ属は、H、Xu、Xa、およびIの4つのクレードに分けられ、HとXuクレード、およびXaとIクレードがそれぞれ単系統である。オオムギ属には、ベンゾキサジノン類やホルダチン類といった複数の抗菌性二次代謝産物が存在している。しかし、蓄積する抗菌性物質の種類と分類学的系統との関係は不明であった。これを調べることで、オオムギ属植物での二次代謝の進化に関する知見が得られると考え、4つのクレードに属する種の抗菌性二次代謝産物を調べた。Hクレードに属する栽培オオムギ <i>Hordeum vulgare</i> はホルダチン類を蓄積したが、Xuクレードに属する <i>H. murinum</i> は、どちらの化合物も蓄積していなかった。XaおよびIクレードの種はすべて、ホルダチン類を蓄積せず、ベンゾキサジノン類を蓄積していた。Xuクレードの <i>H. murinum</i> には、ホルダチン類でもベンゾキサジノン類でもない2種の化合物が蓄積していた。これらの化合物は、ヒドロキシ桂皮酸アミドの一つフェルロイルアグマチンが2分子結合した化合物であった。いずれも新規物質だったのでムリナミドAおよびBと名付けた。ムリナミド類は抗菌活性を示したことから、ファイトアンティシピンとして機能していると推定された。ホルダチン類もヒドロキシ桂皮酸アミドの二量体であることから、HおよびXuクレードに属する種は、共通してヒドロキシ桂皮酸アミド二量体を防御物質として蓄積していることになる。一方で、これらの種はベンゾキサジノン類を有さない。したがって、オオムギ属の進化の中でHおよびXuクレードがIおよびXaクレードから分岐する段階で、ベンゾキサジノン類からヒドロキシ桂皮酸アミドへの防御物質の転換が生じたことが明らかになった。</p>	

ムギ類では誘導性二次代謝産物に関する研究は少ない。そこで、コムギのファイトアレキシンを明らかにするため、コムギの葉にイネ科植物斑点病菌 *Bipolaris sorokiniana* を接種し、新たに蓄積する化合物を調べた。*B. sorokiniana* を接種したコムギの葉を抽出し、HPLC 分析を行なうと2種の化合物が新たに蓄積してくることがわかった。これらの化合物は、桂皮酸とトリプタミン誘導体のアミド、*N*-cinnamoyl-9-hydroxy-8-oxotryptamine および、*N*-cinnamoyl-8-oxotryptamine だった。いずれも文献未記載の化合物だったのでトリティカミド A および B と命名した。トリティカミド A と B は抗菌活性を示したので、コムギのファイトアレキシンとして機能していると推定された。

オオムギでも新たなファイトアレキシンの探索を行った。オオムギの根にオオムギ赤かび病菌 *Fusarium culmorum* を接種すると、コムギと同様にトリティカミド類が蓄積した。続いてトリティカミド類の生合成について検討した。構造が似たイネのファイトアレキシン *N*-cinnamoyltryptamine (CinTry) の合成に参与する tryptamine hydroxycinnamoyl transferase (THT) 遺伝子と配列が類似した遺伝子をオオムギゲノムから探索し、発現を調べた。その結果、互いに1塩基のみ異なる *HvTHT7* と *HvTHT8* の発現が病原菌の接種により増大することがわかった。大腸菌で発現させた組換え *HvTHT7* と *HvTHT8* の酵素活性を調べたところ、いずれもシンナモイル-CoA とトリプタミンから、CinTry を生成する反応を触媒した。加えて、標識 CinTry が効率よくトリティカミド類に取り込まれたことから、まず、*HvTHT7/8* によってシンナモイル-CoA とトリプタミンから CinTry が生成し、これが酸化されてトリティカミド A や B が生成する生合成経路が推定された。

一連の研究は、主要作物やその近縁種に存在する複数の新規化合物の発見を含み、天然物化学への貢献は大きい。さらに、オオムギ属植物およびコムギにおける防御関連二次代謝産物の違いと類似性を明らかにしている。これは、植物が生物学的ストレスに対応していく過程における二次代謝の「スクラップ・アンド・ビルド」を反映したもの捉えることができ、作物の育種や進化の観点からも重要な発見である。以上を総合して、本論文は学位論文として十分な価値があると判定した。