

審査の結果の要旨

氏名 富田 啓介

自ら移動することが出来ない植物が外部からのストレスに対応すべく獲得した機構の一つに、多様な二次代謝産物の生産が挙げられる。植物が生産する二次代謝産物には高い生物活性を有するものが数多く存在しており、医薬品等に利用されている。一方で、そのような化合物の殆どは活性の報告がなされるにとどまり、作用メカニズムが詳細に解明された例は少ない。近年、薬剤耐性菌や農薬耐性雑草の出現が相次いで報告されていることから、新規な作用機序を有する化合物の発見・開発やその作用機序の解明は喫緊の課題である。

モミラクトンはイネ籾殻から単離されたジテルペン化合物であり、植物や真菌の生育を抑制する。更に、モミラクトンは抗腫瘍活性など動物細胞に対しても活性を有することも報告されている。このように、モミラクトンは様々な生物種に対する活性をもつが、その作用機序に関する知見は現在まで殆ど得られていない。

本論文は、分裂酵母の変異株ライブラリーを用いた化学遺伝学的手法と有機合成により創出したモミラクトンプローブ分子を駆使してモミラクトンの作用機序を解析したものであり、全5章から成る。

第1章では、これまでに報告されているモミラクトンの生物活性や構造活性相関および生合成経路について概説している。さらに、真核細胞のモデル生物である酵母について、各種変異株ライブラリーの構築や、それらを利用し化合物の作用機序を明らかにした先行研究例を交えながら、生物活性化合物の作用機序解明のためのツールとしての酵母の有用性について述べられている。

第2章では、酵母を用いてモミラクトンの作用機序を明らかにするための基盤となる知見を得るべく、代表的な酵母である出芽酵母と分裂酵母に対するモミラクトンの抗菌活性を評価し、分裂酵母がより高いモミラクトン感受性を示すことを明らかにしている。さらに、モミラクトン処理時の分裂酵母の形態観察を行うことによって、モミラクトンが分裂酵母の細胞分離を阻害することや、細胞頂端において異常な微小管構造の形成を引き起こすことも明らかにしている。

第3章では、分裂酵母の ORF 過剰発現株ライブラリーや遺伝子破壊株ライブラリー、変異原エチルメチルホスホン酸を用いたランダムに変異を導入した細胞プールからモミラクトン感受性が変化する株をスクリーニングすることによって、モミラクトンの作用・耐性機構に關与する遺伝子を網羅的に探索している。その結果、モミラクトン感受性に影響を与える複数の遺伝子の取得に成功し、それらの遺伝子の機能からモミラクトンが微小管の動態や隔壁形成に影響を与えていることを推定している。これは、第2章での形態観察の結果を支持するものであった。また、翻訳に關与する遺伝子がモミラクトン感受性に關与していたことから、モミラクトンが翻訳を阻害している可能性を提示している。一方、ATP 合成酵素のサブユニットをコードする *atp2* の破壊株がモミラクトン B 耐性を示したことから、モミラクトン感受性と呼吸活性との関係を様々な変異体や呼吸阻害剤を用いて追究し、両者に正の相関があることを見出している。さらに、モミラクトンが細胞内の活性酸素種 (ROS) レベルを低下させること、また、ROS の添加がモミラクトンの生育阻害効果を抑制したことなどから、モミラクトンは ROS レベルを減少させることで生育を阻害している可能性を見出している。加えて本章では、モミラクトン耐性を付与する因子として2つの輸送体 (Caf5, Pmd1) とストレス応答性転写因子 Pap1 の取得にも成功している。

第4章ではまず、光反応性樹脂に官能基非依存的にモミラクトン B を固定したビーズを用いて結合タンパク質の探索が行われている。モミラクトン B 自体に結合する証拠は得られていないものの、推定 NAD(P)H 脱水素酵素 Obr1 がビーズ結合タンパク質として同定されている。さらに、モミラクトンの細胞内局在や結合因子取得のためのプローブ分子の創出を目的として、モミラクトンの構造活性相関研究も併せて行われており、複数のモミラクトン誘導体の合成とその活性評価がなされている。抗菌活性が高く維持された誘導体は得られていないものの、アレロパシー活性を維持した誘導体の創出に成功し、モミラクトンが持つ2つの活性それぞれの構造活性相関が異なっていることを示唆している。

第5章では、2章から4章において得られたモミラクトンの作用機序に関する知見が総括・考察され、今後の展望や課題が述べられている。

これらの研究成果は、殆ど明らかにならなかったモミラクトンの作用機序の一端を解明しただけでなく、モミラクトンの生産能とその耐性形質とを併せた高ストレス耐性作物の作出による、環境保全型農業の実現に新たな展望を示すものであり、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。