

Title	Structure Elucidation and Biosynthesis Studies of Valuable Secondary Metabolites and Development of Cell Manipulation Technique for Their Efficient Production
Author(s)	梶山, 慎一郎
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48475
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文について をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	梶山 慎一郎
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 20599 号
学位授与年月日	平成 18 年 5 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Structure Elucidation and Biosynthesis Studies of Valuable Secondary Metabolites and Development of Cell Manipulation Technique for Their Efficient Production (有用二次代謝産物の構造および生合成解析とその効率的生産のための細胞操作技術の開発)
論文審査委員	(主査) 教授 伊東 一良 (副査) 教授 金谷 茂則 教授 菊地 和也 教授 福住 俊一 教授 宮田 幹二 教授 高井 義造

論文内容の要旨

本論文は、二次代謝産物生産を細胞の形質（フェノタイプ）の一種と捕らえ、細胞機能の解析手法として、細胞レベルでの代謝産物分析手法とその解析結果の確認手段としての代謝改変技術に資する研究を行った一連の研究成果をまとめたものである。

緒論では、本研究の背景をなす細胞解析に関する基礎的な知見および研究状況を総説し、本研究の目的とその内容の概略を記述した。

第一章では、インドールアルカロイド生理活性二次代謝産物の生産を行う放線菌 *Streptoverticillium blastmyceticum* の代謝産物解析および、生合成研究について述べた。具体的には発ガンプロモーター活性を有する Teleocidin の新規関連化合物の単離構造決定を行うと共に、生合成中間体の取り込み実験により Teleocidin 類の生合成系を明らかとし、本経路を利用したバイオコンバージョンにより、新規アナログの合成に成功した。また、これらの化合物の発ガンプロモーション活性および、構造活性相関についても記述した。

第二章では、耐乾燥性を有する藍藻 *Nostoc commune* が産生する新規抗菌性二次代謝産物 Nostfungicidine、細胞分裂阻害物質 Nostodione A の単離および構造決定、糸状菌 (*Botrytis fabae*) と植物カルス (*Phytolacca americana*) の共培養によって生産される抗菌性物質の単離構造解析について述べ、さらに、これらの化合物の生理活性について詳述した。

第三章では、構造研究、生合成研究から得られた代謝経路に関する遺伝子情報を元に、個々の細胞レベルで代謝産物の解析や形質転換を行うことを可能とする細胞操作技術の開発について述べた。具体的には ArF エキシマレーザーを用いた細胞微細加工装置を開発し、植物細胞壁のみを除去することにより、これまで導入が困難であったミクロン単位の粒子の生植物細胞への導入に成功し、細胞特異的に外来物質を導入する技術および細胞内容物を取得しこれを

解析する手段を提供した。このことにより、これまで、組織や器官レベルでしか行えなかった代謝産物の解析が細胞レベルで行えることを示すと共に、細胞特異的な解析が細胞機能理解には重要であることを提案した。

第四章では、第三章で開発した細胞操作装置を細胞形質転換に応用すべく、同装置を用いた新規遺伝子導入法の開発を行った。具体的には *Torenia hybrida* および、*Nicotiana tabacum* をモデル生物とし、ArF エキシマレーザーを遺伝子をコーティングした微細金粒子に照射することにより、金粒子ごと細胞内に遺伝子を導入し、形質転換体を取得することに成功した。また、葉緑体形質転換ベクターを利用することにより、*Nicotiana tabacum* の葉緑体の形質転換にも成功した。このことにより、細胞レベルで代謝改変できる方法を示し、今後の代謝改変研究に新たな手法を提供した。

総括と展望では、本研究で得られた結果を各章ごとにまとめて述べ、また、その知見をもとにして、今後の課題と展望について記述した。

論文審査の結果の要旨

本論文は、二次代謝産物生産を細胞の形質（フェノタイプ）の一種と捕らえ、細胞機能の解析手法として、細胞レベルでの代謝産物分析手法とその解析結果の確認手段としての代謝改変技術に資する研究を行った一連の研究成果をまとめている。

第一章では、インドールアルカロイド生理活性二次代謝産物の生産を行う放線菌 *Streptoverticillium blastmyceticum* の代謝産物解析および、生合成研究について述べている。具体的には発ガンプロモーター活性を有する Teleocidin の新規関連化合物の単離構造決定を行うと共に、生合成中間体の取り込み実験により Teleocidin 類の生合成系を明らかとし、本経路を利用したバイオコンバージョンにより、新規アナログの合成に成功しており、さらにこれらの化合物の発ガンプロモーション活性および、構造活性相関についても記述している。第二章では、耐乾燥性を有する藍藻 *Nostoc commune* が産生する新規抗菌性二次代謝産物 Nostfungicidine、細胞分裂阻害物質 Nostodione A の単離および構造決定、糸状菌 (*Botrytis fabae*) と植物カルス (*Phytolacca americana*) の共培養によって生産される抗菌性物質の単離構造解析について述べ、さらに、これらの化合物の生理活性について検討している。第三章では、構造研究、生合成研究から得られた代謝経路に関する遺伝子情報を元に、個々の細胞レベルで代謝産物の解析や形質転換を行うことを可能とする細胞操作技術の開発について述べた。具体的には ArF エキシマレーザーを用いた細胞微細加工装置を開発し、植物細胞壁のみを除去することにより、これまで導入が困難であったマイクロン単位の粒子の生植物細胞への導入に成功し、細胞特異的に外来物質を導入する技術および細胞内容物を取得しこれを解析する手段を提供することに成功している。このことにより、これまで、組織や器官レベルでしか行えなかった代謝産物の解析が細胞レベルで行えることを示すと共に、細胞特異的な解析が細胞機能理解には重要であることを提案している。第四章では、第三章で開発した細胞操作装置を細胞形質転換に応用すべく、同装置を用いた新規遺伝子導入法の開発を行っている。具体的には *Torenia hybrida* および、*Nicotiana tabacum* をモデル生物とし、ArF エキシマレーザーを遺伝子をコーティングした微細金粒子に照射することにより、金粒子ごと細胞内に遺伝子を導入し、形質転換体を取得することに成功し、葉緑体形質転換ベクターを利用することにより、*Nicotiana tabacum* の葉緑体の形質転換にも成功している。

以上のように、本論文は、各種生物の二次代謝を明らかとした上で、細胞レベルで代謝改変できる方法を示し、今後の代謝改変研究に新たな手法を提供しており、新規性の高い研究と言える。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。