The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	2-hydroxyflavanone C-glucosyltransferase の探索と機能解析
Author(s)	平出, 祥啓
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52235
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

〔　題　　名　〕2-hydroxyflavanone *C*-glucosyltransferase の探索と機能解析

学位申請者　　平出　祥啓

植物は多彩な二次代謝産物を産生する。二次代謝産物は、植物の生存には必須ではないものの、その一部は、花の色の決定や、微生物や昆虫との間の相互作用に関与していることが知られている。植物の産生する二次代謝産物は、しばしば、糖が付加した配糖体（glycoside）として存在する。配糖体は、糖の化学結合様式の違いにより*O*-glycosideや *C*-glycoside 等に分類される。配糖体は、二次代謝産物に糖を転移させる活性を持つ糖転移酵素（glycosyltransferase）によって植物細胞内で生合成される。Glycosyltransferase は 100 個以上からなる多重遺伝子として植物ゲノム中に存在することがゲノム解析により明らかにされており、それぞれが異なる二次代謝産物の異なる原子に糖を付加することで、植物の産生する配糖体を多種多様なものにしている。これまでに数多くの glycosyltransferase が様々な植物から単離・同定され、その酵素学的性質が調べられているが、その多くは*O*-glycoside 生合成にかかわる *O*-glycosyltransferase であり、*C*-glycoside 生合成にかかわる *C*-glycosyltransferase に関する知見はほとんど存在しなかった。本研究では、新規*C*-glycosyltransferaseを探索する目的で、*C*-glucoside 化合物を産生するモデル植物に着目した研究を行い、バイオインフォマティクスの手法を用いて同定した遺伝子が2-hydroxyflavanone *C*-glucosyltransferase 活性を有することを、大腸菌組換えタンパク質発現系を用いた *in vitro* 酵素反応系と、タンデム質量分析計を用いた酵素反応生成物の構造解析により明らかにした。また、これまで未同定であった *C*-glucosyltransferase の触媒残基を立体構造予測（ホモロジーモデリング法）に基づいた部位特異的変異酵素の解析から推定し、*C*-glucosyltransferaseの触媒機構を提唱した。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　平出　祥啓　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	山本　亘彦
	副 査	教授	河村　悟
	副 査	教授	高木　淳一
	副 査	准教授	岡島　俊英
	副 査	教授	難波　啓一

論文審査の結果の要旨

植物は多彩な二次代謝産物を産生する。植物の産生する二次代謝産物は、しばしば糖が付加した配糖体（glycoside）として存在し、糖との化学的結合様式の違いにより *O*-glycoside や *C*-glycoside 等に分類される。多種多様な配糖体が存在し、それらは、それぞれの糖転移酵素（glycosyltransferase）によって生合成される。これまでに数多くの glycosyltransferase が単離・同定されているが、その多くは *O*-glycoside 生合成にかかわる *O*-glycosyltransferase であり、*C*-glycoside 生合成にかかわる *C*-glycosyltransferase に関する知見はほとんど存在しなかった。

申請者は、*C*-glycosyltransferaseの反応機構を明らかにしたいと考え、モデル植物に着目し、バイオインフォーマティクス的手法によって新規候補遺伝子を見出した。次いで、大腸菌で発現させた組換えタンパク質を用いた酵素反応系と、タンデム質量分析計を用いた反応生成物解析により、この候補遺伝子が2-hydroxyflavanone *C*-glucosyltransferase 活性を持つことを明らかにした。さらに、立体構造予測に基づき、部位特異的変異酵素を作成し、反応に関与するアミノ酸残基を推定するとともに触媒機構を提唱した。

本研究により、*C*-glucosideの生成機構が明らかとなった。本研究は博士の学位に値するものと認める。