

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 上原 貴大

論 文 題 目 Controlling Plant Circadian Clock by Synthetic Small Molecules  
(合成小分子による植物の生物時計の制御)

### 論文審査担当者

主 査 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所  
教授 博士(工学) 伊丹 健一郎

委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所  
教授 博士(工学) 山口 茂弘

委 員 名古屋大学大学院理学研究科  
教授 博士(工学) 斎藤 進

委 員 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所  
特任准教授 博士(農学) 中道 範人

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

生物は24時間周期で変動する地球環境に合わせて生命活動を行うために、生物時計(概日時計)と呼ばれる計時システムをもっている。生物時計は、複数の時計遺伝子が互いに転写、翻訳、翻訳後修飾(リン酸化)を制御し合う、複雑なフィードバック機構によって構成される。特に植物の生物時計は複雑で、これまでに20種類以上もの時計遺伝子が発見されている。これに加えて未同定の遺伝子が多数存在すると考えられており、その概日時計の全容は未だ不明である。このような背景のもと、申請者は化学的手法を加えた新たなアプローチにより植物の生物時計の全容解明を目指した。トランスフォーマティブ生命分子研究所(ITbM)の中道らは、化合物スクリーニングにより植物の生物時計を変調させる分子(生物時計制御分子)を見出している。本申請者は、このうち概日リズムを長周期化する三つの分子に着目し、分子ツールとしての展開を行った。本論文は、これらの分子の構造活性相関、標的タンパク質の同定、作用機序解明および効率的合成法の開発について論じており、四章より構成されている。

第一章では、PHA767491(PHA)の標的タンパク質同定について論じている。本申請者は、PHA誘導体の合成及び、それらの周期変調活性を評価した。その結果、PHAの周期変調活性を維持したまま誘導化可能な部位を明らかにした。この知見を基に、PHAを固定化したアガロースビーズを作成し、植物抽出液から標的タンパク質の同定を行った。これにより、リン酸化酵素であるCK1ファミリーがPHAの標的タンパク質であることを見出した。さらにITbMのKay-廣田グループと共に、PHAには植物だけでなく哺乳類の概日リズムも長周期化する効果があり、哺乳類におけるPHAの標的もCK1であることを見出した。以上の結果から、哺乳類と同様に植物においてもCK1が生物時計の制御に関わっていると考えられる。

第二章ではBML-259(BML)の標的タンパク質の同定について論じている。BMLは通常24時間の植物の概日リズムを最大48時間に長周期化するという興味深い分子である。本申請者は、BMLの構造活性相関研究及び標的時計タンパク質の同定を行った。本分子の誘導体合成の過程で、チアゾールC5位にシクロブチル基を有する誘導体がBMLより高い長周期活性をもつことを見出した。構造活性相関研究の結果を基にBMLをベースとした分子プローブを調製し、アフィニティ精製による標的タンパク質探索を行った。その結果、BMLの標的タンパク質がCDKファミリーとCRYファミリーであることを見出した。

第三章ではTU-892の構造活性相関および標的タンパク質同定について論じている。TU-892は、中枢神経抑制活性をもつ化合物であるが、本研究で新たに概日リズムの周期延長活性があることを見出した。本申請者は、TU-892の概日時計に対する構造活性相関研究を行った。本分子の誘導体合成の過程で、概日リズムを短周期化させる化合物TU-923を新たに発見することに成功した。また、TU-892のピラゾール上のアリール基は誘導化可能であることが判明した。この知見を基に、TU-892をベースとした光親和性プローブを合成した。

アミノチアゾール誘導体は第二章で論じたBMLのような生物時計制御活性のみならず、様々な生物活性を示す重要な化合物である。第四章ではアミノチアゾール誘導体の効率的な供給法の開発を念頭に置き、パラジウム触媒を用いたアミノチアゾールのC-H結合及びC-N結合アリール化反応の開発を行った。2-アミノチアゾール誘導体とアリールボロン酸を用いて、酢酸パラジウム/1,10-フェナンスロリン(phen)触媒、酸化剤に2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシド(TEMPO)、添加剤にホウフッ化リチウムを加えて反応を行うことで、良好な収率と高いC4位選択性でアミノチアゾールのC-Hアリール化が進行することを見出した。加えて、本反応の配位子をphenから2,2'-ビピリジル(bipy)に変えることで、脱アミド型のカップリング反応が進行することを見出した。すなわち、Pd(OAc)<sub>2</sub>/bipy触媒存在下、アミノ(ベンゾ)チアゾール類とアリールボロン酸がC-N結合の切断を伴いながらカップリングし、2-アリールベンゾチアゾールを与えることを見出した。

以上本申請者は、植物の生物時計の解明及び制御を指向し、中道らによって同定された生物時計制御分子を誘導化することで、植物の生物時計に対する作用機序の解明研究を行った。その結果、植物の生物時計制御に関連するタンパク質としてCK1とCDKを新たに同定することに成功した。このような合成化学と植物科学を融合した分野横断型研究を遂行したことにより、未解明の植物生物時計機構の完全解明に大きく貢献したといえる。以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。