

## 審査の結果の要旨

氏名 インタン ティムル マイシャラ

天然化合物は、構造多様性に富んでおり様々な生物活性を示すことから、臨床薬などのリード化合物の探索源として広く利用されている。このような天然化合物の中には、プレニル基を有する化合物も少なくなく、またプレニル化によって生物活性が変化することから、プレニル化酵素を用いた酵素化学合成の報告例が増えてきている。しかしながら、プレニル化反応を触媒するプレニルトランスフェラーゼの報告例はまだ多くはないため、新奇なプレニル化活性を示すプレニルトランスフェラーゼの発見が期待されている。本論文では、放線菌由来の新奇な 3 つのプレニルトランスフェラーゼの機能解明と、基質特異性の寛容なプレニルトランスフェラーゼを用いたプレニル化インドール化合物の酵素化学合成について述べている。

本論文は、プレニルトランスフェラーゼの分類と各酵素の性質などを記述した序論に続き、第 1 章から第 4 章の 4 つの章によって構成されている。

第 1 章では、*Streptomyces coelicolor* A3(2)由来の SCO7467 インドールプレニルトランスフェラーゼの機能解析とプレニル化インドール化合物の酵素化学合成について述べている。SCO7467 の生理的基質はトリプトファンであり 5 位にジメチルアシル基を付加するが、インドールの 3 位に様々な置換基をもつ化合物に対してもプレニル化反応を触媒し、多くは 5 位または 6 位にジメチルアシル基を付加することを明らかにしている。一方で、インドールアセトニトリルをプレニル受容体としてインビトロ反応を行った場合には、プレニル化に続き酸化反応を受けた反応産物が生成することを証明している。さらに、これらの反応産物の酸素原子の由来を明らかにするため、<sup>18</sup>O 標識した分子状酸素と水とを用いたトレーサー実験を行い、その反応機構を推定している。

第 2 章では、*Streptomyces* sp. RI18 のゲノム配列から、SCO7467 をクエリーとした相同検索により見出した RI18\_6032 プレニルトランスフェラーゼの機能解析について述べている。RI18\_6032 はトリプトファンナーゼと推定されるタンパク質との融合タンパク質であることから、新奇な酵素活性を予想し、RI18\_6032 の組換え酵素を用いたインビトロ反応において様々な反応条件を検

討している。その結果、予想に反してトリプトファナーゼが関与すると考えられる反応は検出されず、トリプトファンにジメチルアリル基が付加した反応産物のみが検出されることを確認している。一方で、RI18\_6032 はインドールに対してプレニルトランスフェラーゼ活性を示さないことも確認している。この結果から、RI18\_6032 は比較的基質特異性の高い新奇なプレニルトランスフェラーゼであると結論している。

第 3 章では、*Streptomyces versipellis* 4083-SVS6 のゲノム配列から、SCO7467 をクエリーとした相同検索により見出した JL68\_2352 プレニルトランスフェラーゼの機能解析について述べている。JL68\_2352 の組換え酵素を用いたインビトロ反応と *Streptomyces lividans* TK23 株における JL68\_2352 の異種発現の結果に基づき、JL68\_2352 はチロシンの水酸基にジメチルアリル基を付加して *O*-(3-methyl-2-butenyl)-tyrosine へと変換する新奇プレニルトランスフェラーゼであると結論している。また、JL68\_2352 の遺伝子破壊株が、構造中にプレニル基を含む furaquinocin を生産するように変化するという興味深い現象を見出し、この結果から 4083-SVS6 においてプレニル基供与体の競合が原因となって、通常条件下では furaquinocin が生産されないと推定している。また、JL68\_2352 が生産する *O*-(3-methyl-2-butenyl)-tyrosine はさらに代謝されてより分子量の大きい最終二次代謝産物へ変換されると予想しており、今後、その未知代謝産物の同定が重要課題であると今後の研究の方向性を示している。

第 4 章では、*Streptomyces sp.* SS080624GE-03 のゲノム配列から、SCO7467 をクエリーとした相同検索により見出した PTS22 プレニルトランスフェラーゼの機能解析について述べている。*S. lividans* TK23 株における PTS22 の異種発現の結果から、PTS22 は 4-ヒドロキシ安息香酸の水酸基にジメチルアリル基を付加し、オレンジなどから単離され valencic acid として知られる 4-((3-methylbut-2-en-1-yl)oxy)benzoic acid とそのメチルエステル体 (新奇化合物) を生成する新奇プレニルトランスフェラーゼであると結論している。

以上の研究成果は、新奇プレニルトランスフェラーゼを同定してその性質を明らかにするとともに、それらの酵素を利用した構造多様なプレニル化合物の酵素化学合成を達成したものであり、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。