

審査の結果の要旨

氏名 小林 正弥

プレニルインドール化合物は、テルペン骨格および L-トリプトファンに由来するインドール環から構成される天然化合物であり、分子内に窒素原子を含み塩基性を示すアルカロイドの一種である。アルカロイド系の化合物群は骨格構造および生物活性の多様性に富むことから、創薬に向けた重要な化合物資源となっている。そのような医薬品リード化合物の生合成機構を解明することで、アルカロイドの構造多様性を生み出す多彩な二次代謝経路や酵素反応の理解につながり、また得られた知見を基に新規分子骨格の構築や生物活性の創出に寄与することが期待される。本研究では、放線菌の生産する抗酸化活性を有するプレニルインドール化合物 **carquinostatin A (CQS)** および **lavanduquinocin (LVQ)** に着目し、その多環式構造やテルペノイド骨格の構築を担う興味深い生合成マシナリーの全容を明らかにしている。

本論文は、第 1 章から第 3 章では **CQS** および **LVQ** の生合成機構について、第 4 章では **LVQ** の有するシクロラバンデュリル骨格形成の分子機構について記述している。

第 1 章では、**CQS** を生産する放線菌 *Streptomyces* sp. CS79 株、および **LVQ** を生産する *Streptomyces* sp. FGK858 株のドラフトゲノム解析とゲノム情報の比較による生合成遺伝子の探索について述べている。また、*Streptomyces lividans* TK23 株を用いた **CQS** の異種生産実験により、**CQS** 生合成遺伝子クラスターの同定に成功している。以上の結果は、**CQS** および **LVQ** の生合成遺伝子を初めて同定したことに加えて、両化合物のような生合成遺伝子の予測が困難な天然物において、ゲノム情報の比較が目的遺伝子の探索に有効であることを示している。

第 2 章では、**CQS** および **LVQ** の有するプレニル基の転移反応に関わる酵素の同定と機能解析について記述している。スクアレン合成酵素と相同性を示す新規カルバゾールプレニル基転移酵素 **CqsB4** および **LvqB4** は、基質特異性が寛容であり、非天然型のプレニル化カルバゾール化合物の酵素合成も可能であることを示した。プレニル基は化合物の細胞内への浸潤性を高め、生物活性の

発現に重要な構造であると考えられていることから、**CqsB4** および **LvqB4** は化合物の生物活性の創出に寄与する可能性のある有用酵素であることを示した。

第 3 章では、オルトキノンを含む三環式のカルバゾール骨格の形成を担う酵素 **CqsB2** を同定し、その反応機構について考察している。**CqsB2** は機能未知タンパク質であったが、単独の酵素でインドール環に付加した炭素鎖の環化反応およびオルトキノンの形成をも触媒する前例のない酵素であることを示した。本成果は、自然界におけるオルトキノンを有するカルバゾール類縁体の形成機構の解明につながる重要な知見である。

第 4 章では、シクロラバンデュリルジリン酸合成酵素 **CLDS** の反応機構について記述している。ラベル実験により **CLDS** の環化反応には分子内プロトン転位が関与することを示し、また結晶構造に基づく変異体解析において **Pro8** および **Phe173** が環化反応に重要な残基であることを検証している。その結果、**CLDS** の環化反応には基質の配置の制御が要因の一つとなっており、基質同士の間が分子内プロトン転位反応を開始させ、続く環化反応を促進すると結論づけている。本成果は、テルペノイド生合成において提唱されてきた、分子内プロトン転位に関する初めての構造基盤を提供するものである。

以上の研究成果は、未解明のアルカロイドやテルペノイド骨格合成の分子機構を精密な生化学的解析により解明し、構造多様性の拡張や新たな機能性分子を創出するための分子基盤の構築に貢献しうることから、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。