

## 審査の結果の要旨

氏名 工藤 慧

天然化合物は医薬品等に用いられる生物活性物質として重要な位置を占めてきた。しかし近年は新規骨格を有する生物活性物質の発見が減少傾向にあり、天然化合物ライブラリーの拡充が求められている。このような中で生合成研究は、生合成酵素の触媒する興味深い化学反応を明らかにするとともに、新たな骨格の天然化合物を獲得するための手段を提供する分野として発展してきた。

本論文は、放線菌が生産する天然化合物の構造多様性を生み出す特異な官能基について、その導入を担う遺伝子の同定と遺伝子産物の機能解明、さらには生合成経路を利用した新規骨格化合物の獲得について論じたものである。天然化合物の生合成研究に関して概説した序論に続き、第一章はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 **trichostatin A (TSA)** の生合成について、第二章はチオアミド含有化合物の生合成と多様性拡張について、第三章は特異な環構造を有する天然化合物の生合成について述べている。

第一章では、まず **TSA** 生合成遺伝子クラスターの同定について述べられている。有用物質である **TSA** の生合成遺伝子を初めて同定し、さらに異種発現によって野生株の 17 倍の高生産株を作出したことは、異種発現が物質生産に有効な手段であることを示す結果である。次いで **TSA** の炭素骨格の形成に関わるユニークな **I 型ポリケチド合成酵素 (PKS)** の機能解析について述べられている。ここで明らかにされた、*p*-アミノ安息香酸が **CoA ligase** ホモログ **TsnB12** によって **I 型 PKS** の **N 末端アシルキャリアタンパク質ドメイン**へ乗せられ、さらにメチル基転移酵素 **TsnB8** によって **PKS** 上でアミノ基が修飾されるという機構はこれまでに報告例がなく、ポリケチドの構造多様性を生み出すプライミング機構の多様性の一端を明らかにしたといえる。さらに **I 型 PKS** によって生合成される中間体 **trichostatic acid (TS acid)** から、最終産物 **TSA** に至る末端ヒドロキサム酸基の形成過程について述べられている。**N**-酸化酵素 **TsnB7** と **TsnB6** が協働して触媒する新規な非タンパク質性アミノ酸 **glutamic acid  $\gamma$ -monohydroxamic acid (GluHx)** の生成反応、およびアミド基転移酵素のホモログである **TsnB9** が触媒する **GluHx** から **TS acid** へのヒドロキサム酸基の転移

反応を明らかにし、ユニークな末端ヒドロキサム酸基の生合成機構を提唱している。この機構は新規末端ヒドロキサム酸含有化合物の発見や人為的創出へと展開が期待でき、有用物質獲得のための手段を広げる重要な知見である。

第二章では、まずチオアミド含有化合物 thioviridamide (TVA)の生合成経路に関する研究が述べられている。遺伝子破壊実験および *in vivo*、*in vitro*における生合成遺伝子の機能解析から生合成経路の全容を推定し、特徴的なチオアミド結合の形成に関与する遺伝子として YcaO ホモログと TfuA-like ファミリータンパク質を特定している。さらには aminoglycoside phosphotransferase ファミリータンパク質が関与する lanthipeptide の新規な脱水様式と、フラボタンパク質が関与する酸化的脱炭酸反応を明らかにしている。これらの発見はいずれも RiPPs (Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides)の構造多様性を生み出す仕組みの一端を明らかにした成果であり、生合成経路改変による構造多様性の拡張に向けた基盤を与えるものといえる。続けて TVA の生合成遺伝子クラスターを利用した合成生物学的手法による TVA の母核改変と、TVA の構造活性相関について述べられている。コアペプチドの改変手法を新たに開発し、27 株から発酵生産による新規 TVA 類の生産に成功したことは、有機合成的手法では困難な母核改変を達成した応用上重要な成果である。また 10 種の化合物を単離・精製し、構造活性相関に関する知見を得たことは、高活性物質の作出に向けた指針を与えるものであり、同時に生合成を利用したケミカルライブラリーの拡張可能性を示す結果である。

第三章では、まずメロテルペノイド furaquinocin D の環化酵素について述べられている。メチル基転移酵素と相同性を示す Fur21 がヒドロアルコキシ化反応による分子内環化反応を触媒することは、タンパク質の一次配列の相同性からは全く予想できなかった知見であり、メチル基転移酵素ファミリーの触媒機能の多様性を示す興味深い結果である。また、Fur21 は細菌由来のヒドロアルコキシ化反応を触媒する二次代謝関連酵素として最初の例であり、エーテル結合を有する様々な天然化合物の生合成経路を考える上でも重要な知見である。次に pyrroloquinoline 骨格を有する ammosamide A/B (AMS A/B)の生合成について述べられている。細菌人工染色体 (BAC)ベクターを用いた異種発現により AMS A/B の生合成遺伝子クラスターを同定し、さらに遺伝子破壊実験によって AMS A/B の生合成に必須な遺伝子を明らかにしたことは、ユニークな pyrroloquinoline 骨格の生合成経路の解明に迫る重要な知見である。

以上、本研究は天然化合物の構造多様性を生み出す特異な官能基の生合成機構の一端を解明し、またその知見を利用したさらなる構造多様性の拡張可能性を示すものであり、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。