

## 審査の結果の要旨

氏名 全 智揚

本学位論文において全智揚は「Discovery and Biosynthetic Investigation of Fungal Secondary Metabolites(糸状菌由来二次代謝産物の探索と生合成研究)」と題し糸状菌由来メロテルペノイド化合物アスコクロリンの生合成研究および機能未知糸状菌生合成遺伝子クラスターの解析による新規アンドラスチン A 類縁体の創出を行った。糸状菌は多種の生物活性物質の生産者であり、医薬品開発における大きな役割を担っている。しかし、新規医薬品へのデマンドが拡大する一方、新規活性物質の探索が困難になりつつある。故に、効率的に新規天然物を探索し、活性分子ライブラリーを拡張することは天然物研究者にとって急務である。

そこで、全は糸状菌のゲノム情報を基づき、バイオインフォマティクスの手法を用いて、天然物生合成遺伝子群を調べることにより、既知天然物の生合成研究と新規天然物の探索を試みた。本学位論文において、全は既知化合物アスコクロリンの生合成経路の解明および新規シクロムP450 生体触媒と天然物の発掘・同定に取り組み、それぞれにおいて以下の成果を挙げた。

### 1. メロテルペノイド化合物アスコクロリンの生合成研究

アスコクロリン (図 1) は、多種の糸状菌から単離されるメロテルペノイドであり、抗ウイルス活性、血糖低下作用、コレステロール低下作用、抗腫瘍活性など多様な生物活性を持つことから、医薬品資源としての利用が期待される。また、シクロヘキサノン環を含むセスキテルペノイド部位ならびにハロゲン化された芳香環から構成される特徴的な化学構造を持つため、その生合成にも興味を持たれる。



図 1. アスコクロリンの生合成遺伝子クラスター

アスコクロリンの生合成経路解明のため、その生産菌である *Fusarium* sp. NBRC100844 に対し、ドラフトゲノムシーケンス解析を実施したところ、ポリケタイド合成酵素、プレニル基転移酵素遺伝子を含む七つの遺伝子から構成されるアスコクロリン生合成遺伝子クラスターを見出した。麴菌にてこの遺伝子クラスターの異種発現系を構築し、各生合成酵素の機能解析を行った結果、当該遺伝子クラスターにコードされる七つの酵素が全てアスコクロリンの生合成に関与することを明らかにするとともにアスコクロリン生合成の全容解明に成功した。

また、アスコクロリンの生合成経路における環化酵素 *AscF* の変異体に対する *in vivo* 解析を行い、触媒作用における重要なアミノ酸残基の同定に成功した。

## 2. 新規機能未知生合成遺伝子群の解析による新規アンドラスチン A 類縁体の創出

本研究に先立って、*Penicillium chrysogenum* Wisconsin 54-1244 株のゲノムデータベース中にメロテルペノイド化合物アンドラスチン A の生合成遺伝子クラスターが見出され、その生合成の後期段階が解明されている。他方、糸状菌 *Emericella varicolor* のゲノム中にアンドラスチン A 生合成遺伝子群と類似した遺伝子クラスターを見出された。当該遺伝子クラスターには、アンドラスチン A 生合成に関わると推定される遺伝子群に加えて、アンドラスチン A 生合成遺伝子クラスター中の遺伝子とは類似性の低い遺伝子が三つ存在しており、これらがコードする酵素群によってアンドラスチン A がさらに修飾された化合物へと変換されることが期待された。

そこで、これら三遺伝子の機能解析を行うべく、アンドラスチン A 生合成遺伝子群とともに麴菌において共発現系を構築し、その代謝産物を分析したところ、これら遺伝子により、アンドラスチン A がシトクロム P450 オキシゲナーゼをコードした *ctr-P450* のみで既知天然物シトレオヒブリドノールに変換されることを明らかにした (図 2)。

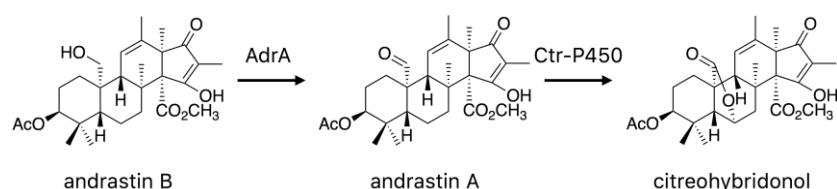


図 2. シトレオヒブリドノールの生合成経路

さらに詳細にシトレオヒブリドノール生合成における鍵酵素である Ctr-P450 の機能解析を行ったところ、シトレオヒブリドノールの生合成過程における副生成物として、四つの新規化合物が単離された (図 3)。

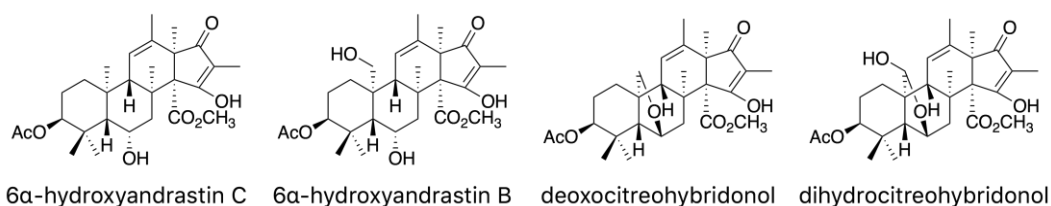


図 3. アンドラスチン A の新規類縁体

本研究は、糸状菌由来メロテルペノイド生合成経路の解明を達成しただけでなく、メロテルペノイドの後期生合成における機能未知修飾酵素の機能解析も成し遂げた。これらの業績は生物情報科学および合成生物学を用いた既知天然物の生合成研究を加速するのみならず、新規活性天然物の探索にも大きく貢献するものであり、よって本論文は博士 (薬科学) の学位論文として合格と認められる。