

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 長谷部 文人

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* はアミノ基保護キャリアタンパク質(LysW)を用いる機構でリジンを生合成する。ゲノム情報が明らかになるにつれて、様々な生物がこの生合成システムのホモログタンパク質群をコードする遺伝子を有していることが明らかになっている。DAP 経路でリジンを生合成することが知られている放線菌においても、*lysW* ホモログ遺伝子をそのゲノム上に有している株が多く存在していることが明らかになった。このことから LysW ホモログがリジン生合成以外の代謝に関わることを示唆された。本研究は、放線菌 *Streptomyces* sp. SANK 60404 (以下 SANK 60404)におけるアミノ基保護キャリアタンパク質(LysW ホモログ)に注目し、それが関わる二次代謝産物の同定および生合成機構の解明を行ったものである。

第1章の序論に続き、第2章では SANK 60404 が有する *lysW* ホモログ遺伝子周辺領域を含むコスミドを取得し、そのシーケンス解析を行うことにより *lysW* ホモログ遺伝子周辺領域に存在する遺伝子を明らかにしている。その遺伝子解析による推定と、*in vivo*、*in vitro* によるアミノ基保護キャリアタンパク質を介した生合成システムの解析を行うことにより、SANK 60404 が非タンパク性の未知アミノ酸の生合成に関与すること、さらにその生合成において *lysW* ホモログ遺伝子周辺領域にその遺伝子が存在する Transketolase(TK) と Transaminase(TA)が関与することを明らかにすることが出来た。これにより、LysW ホモログを介する生合成システムが、様々な代謝酵素を受け入れ可能なフレキシビリティの高いものであることが示唆された。

第3章においては、第2章で見出された SANK 60404 が生産する未知アミノ酸を、大腸菌の *argD* 破壊株を宿主として、その生合成に必要な遺伝子8個を共発現させることにより大量生産させることに成功している。このアミノ酸を分取精製して NMR でその構造を決定した。結果、それが新規アミノ酸(2,6)-diamino- (5,7)-dihydroxy-heptanoic acid (DADH) であると明らかになった。化学修飾および新モッシャー法を用いて DADH の絶対立体配置が(2*S*,5*R*,6*S*)であることを決定した。DADH の立体構造から、推定される DADH の生合成経路を考察している。

第4章においては、野生株および破壊株の培養上清の LC-MS 分析を用いて、SANK 60404 が DADH を中間体として生合成する天然化合物の探索および同定を試みた。その結果、DADH を中間体として生合成される天然化合物を3つ(化合物 a,b,c)見出し、化合物 b がバリンとピペリジン環を有する新規アミノ酸からなる新規ジペプチド(Val-Pip)であると決定した。遺伝子クラスターの情報および化合物の物性から、化合物 a がバリンとアザビ

シクロ環を有する新規アミノ酸からなる新規ジペプチドであり、さらにこれに水が付加して開環することによって Val-Pip を生じる可能性が述べられている。さらに、破壊株の実験から、アザビシクロ環の形成反応に関わると考えられる酵素をコードする遺伝子を見出している。

これら得られた結果より、放線菌 *Streptomyces* sp. SANK 60404 が有するアミノ基保護キャリアタンパク質が関与する二次代謝産物の生合成機構の全体像があきらかになりつつある。

以上、本研究は、アミノ基保護キャリアタンパク質が一次代謝だけでなく二次代謝にも関与し、天然化合物の構造多様性を創出する機構の 1 つとして生物に組み込まれていることを初めて明らかにすると同時に、未だ単離例が極めて少ないアザビシクロ環含有天然化合物のリソースの拡充に寄与するものであり、学術上、応用上貢献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のあるものと認めた。