HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | 合成生物学的アプローチによる糸状菌由来セスタテルペンのゲノムマイニング［論文内容及び審査の要旨］ |
| Author(s) | 成田, 興司 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(理学) |
| Dissertation Number | 甲第13239号 |
| Issue Date | 2018-03-22 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/70100 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Koji_Narita_review.pdf, 審査の要旨 |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（理学）　氏名　成田　興司

審査担当者
主査　教授　谷野 圭持
副査　教授　及川 英秋
副査　教授　大利 徹
副査　教授　澤村 正也

## 学 位 論 文 題 名

合成生物学的アプローチによる糸状菌由来セスタテルペンのゲノムマイニング

テルペンは植物や微生物の生産する主要な二次代謝産物のひとつであり、その生合成機構は骨格構築と酸化修飾の二段階に大別される。テルペノイドの骨格合成酵素の中にはプレニル基転移ドメインと環化ドメインが融合した二機能性環化酵素が存在し、2007 年に最初の酵素が発見されて以降、そのホモログの機能解析が急速に進められてきた。しかしこれまで標的遺伝子由来の環化酵素の生成物を予め推定できず、また酸化修飾を含む生合成経路の全容が解明されているジテルペン (C20) やセスタテルペン (C25) は、ほとんどなかった。本学位論文では、序論にて研究背景について述べ、続く 1 章では糸状菌異種発現系を利用した新規テルペン環化体のゲノムマイニング手法を提案している。2 章では環化体の酸化修飾による生物活性天然物の異種生産を検討し、新規あるいは既知天然物を与える遺伝子クラスターの機能解析において得られた知見について議論されている。

1 章では、二機能性テルペン環化酵素の系統樹解析に基づくクレード特異的なゲノムマイニングについて述べている。二機能性環化酵素は、系統樹解析を行うことで複数のクレードに分類されるが、機能が不明なクレード A に属する 4 種の環化酵素を 2 種の糸状菌から見出し、その麹菌を用いた発現解析により 4 種の新規生成物を取得した。それらの構造からクレード A 環化酵素 NfSS の生成物セスタフィシェロール（SFol）と類似の生合成経路から分岐して生じたものと推定している。その初発の環化機構は、クレード B に属する環化酵素における機構とは異なっていたことから、環化酵素のアミノ酸配列相同性と環化機構との間には関連性を指摘している。

さらに 1 章では、NfSS に対する変異導入実験により SFol 生合成経路の検証を試みている。共同研究者によって、計算化学的手法により SFol 生合成の環形成機構に 2 種の経路 (A, B) が推定されていた。これを特定すべく NfSS の環化で主要な役割を担うと予想されたアミノ酸残基の変異実験を行い、経路 A でしか生成し得ない 2 種の生成物が得られたことから、SFol 生合成経路の確定している。本手法により、新規あるいは既知の天然物を与える可能性のある環化酵素の推定や、類似テルペン骨格の集中的合成を提唱している。さらに、計算化学的手法を組み合わせることでより精度の高い生合成経路の推定や生合成中間体の同定の可能性も指摘している。

2 章では、二機能性環化酵素の与える環化体の酸化修飾により生物活性天然物の異種生産を試み、3 種の糸状菌ゲノム上に存在する環化酵素の周辺に見出された複数の酸化酵素遺伝子の麹菌での共発現により、血管新生阻害剤テルペスタチン、新規天然物ベタスタチン、抗腫瘍性物質オフィオボリン C およびその 4 種の生産および全ての中間体の単離により生合成経路の解明に成功している。これにより、麹菌を宿主とした環化酵素遺伝子と酸化酵素遺伝子との共発現手法は既知および新規天然物の生産における有用性を指摘している。また本手法を 1 章で提案した環化体の探索手法と組み合わせることで、新規生物活性天然物の網羅的合成が可能なことを示している。

これを要するに著者は、微生物ゲノム上に見つかる機能未知のテルペン生合成遺伝子群をモデル宿主で発現させ、その骨格構築機構を明らかにするとともに新規化合物を得るという方法論を開発している。特に著者は、二機能性環化酵素に着目し多種類発現解析することで、系統樹解析と環化機構に相関があることを突き止め、生成物の構造を予測しつつ、類縁化合物を網羅的に生産する新たな方法論を提供している。医薬品など有用天然物の供給に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士 (理学) の学位を授与される資格あるものと認める。