HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	人工的機能改変を指向した糸状菌ポリケタイド系天然物の生合成に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	鵜飼, 孝大
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13667号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74128
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takahiro_Ugai_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　鵜飼　孝大

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	准教授	南 篤志
	副査	教授	鈴木 孝紀

学 位 論 文 題 名

人工的機能改変を指向した糸状菌ポリケタイド系天然物の生合成に関する研究

ポリケタイド系天然物は微生物、植物などが生産する有機化合物であり、有用な生物活性物質を含んでいる。その構造多様性は、1）多数の機能ドメインからなるポリケタイド合成酵素（PKS）によるポリケタイド鎖（PK）の構築、2）修飾酵素による PK の官能基化・構造複雑化を受けることで創出されている。近年では、生合成遺伝子の異種発現による天然物生産が可能になってきているが、PK 系天然物においては、その酵素の取扱いの難しさや汎用的異種発現系がないことから研究例は限定的である。本学位論文では、1 章で研究背景を述べ、続く 2 章では麹菌異種発現系を利用した標的 PK 系天然物の酵素的全合成、3 章では標的化合物未知の生合成遺伝子のゲノムマイニング、4 章では、複雑な生合成機構が想定された PK 系天然物の生合成、5 章では人工的に機能を改変した非天然型の酵素を作成についてそれぞれ述べている。

2 章では、先行研究で得られた情報をもとに糸状菌由来植物毒素 betaenone 生産菌 Phoma betae より bet 遺伝子クラスターを見出し、麹菌を利用して機能解析を行っている。最終的に betaenone B の酵素的全合成を達成している。

3 章では、テルペン合成酵素に比べて巨大な酵素である PKS を用いたゲノムマイニングへの応用例は少ないため、複数存在する候補遺伝子から発現遺伝子に絞り込んで解析を行った。海洋糸状菌由来ポリケタイド didymellamide の生合成遺伝子の発見し、そのゲノムマイニングに成功している。

4 章では、複雑な生合成機構が想定されるシクロペンテン骨格を共通構造として有する PK 系天然物 cyclohelminthol および terrein の生合成研究を行っている。Terrein の推定中間体は、酸化を受けやすいヒドロキノン構造であり、その高い反応性が生合成研究の大きな障害になっていた。そこで terrein とは置換基が異なる類縁体 cyclohelminthol および palmaenone の生合成遺伝子の機能解析を行い、ハロゲンが置換したヒドロキノンを用いることで、不安定な中間体の捕捉に成功している。さらに、生合成遺伝子クラスター中にこれまで見逃されていた TerQ ホモログが側鎖の脱水に関与していることを明らかにするとともに、terrein に至る合理的な生合成経路を提唱している。

5 章では、これまで得られた知見をもとに、PKS-NRPS を材料としたキメラ酵素の作成および機能解析を行っている。PKS の連続した触媒反応は対応する各ドメインによって制御されているため、既知 PKS-NRPS 間でのドメイン交換によってキメラ酵素を調製し、生成物へ与える影響を調査する手法が知られている。本手法を用いて生成物への影響の検出が容易な R ドメインを対象としてキメラ酵素遺伝子を調製し、麹菌において発現させている。最終的に、十分量の非天然型ポリケタイドを得ることに成功し、交換対象とした R ドメインについての理解を深めている。

これを要するに著者は、複雑な機能を有する HR-PKS 機能解析、並びに高度な生合成機構をもつ天然物の生合成研究を行い、将来的な酵素の人工的機能改変を行う上で有用な知見を得ることに成功している。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。