



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on Natural Products from Untapped Bacterial Resources [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Haedar, Jabal Rahmat
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第14839号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85733
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Jabal_Rahmat_Haedar_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（薬科学）
氏 名 ジャバール ラマート ハエダル

	主 査	教 授	脇 本 敏 幸
審査担当者	副 査	教 授	市 川 聡
	副 査	准教授	薬師寺 文 華
	副 査	講 師	松 田 研 一

学 位 論 文 題 名

Studies on Natural Products from Untapped Bacterial Resources (未開拓細菌類を起源とする天然物に関する研究)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

これまで微生物や動植物を起源とする天然物からは数多くの医薬品や医薬品リード化合物が見出されてきた。特にペニシリンの発見以降、世界中で天然物探索が精力的に進められ、膨大な成果が蓄積されてきた。そのため近年では天然物探索において新たな化合物を見出すことが容易ではなくなっている。一方で、近年のゲノムシーケンス解析技術の発展に伴い、天然物を生産する微生物のゲノムや環境メタゲノムが容易に解読できる時代が到来した。その結果、自然界には当初想定されていた以上の微生物が存在しており、そのほとんどが難培養性であることが明らかになった。さらにすでに単離報告された天然物を遥かに凌駕する多様な天然物の存在が生合成遺伝子から予想されている。従ってゲノム情報から予測される多様な天然物を取得するため、従来とは異なる探索源を開拓することが重要であり、今後の発展が待たれている状況にある。

そこで本論文では、未開拓微生物資源を対象とした新規天然物の探索を行い、天然物探索における新たな方策の検証を目的とした。

まず著者は海綿共生微生物由来の天然物の探索を行なった。海綿動物は多様な二次代謝産物を含むことが知られているが、その多くが共生微生物由来であることが示唆されている。すでに先行研究によって海綿 *Theonella swinhoei* には *Entotheonella* 属のバクテリアが共生しており、ポリケチドやペ

プチドなどのさまざまな生物活性天然物の生産を担っていることが分かっている。そこで本研究ではインドネシア産の *T. swinhoei* を対象として、新規天然物の探索を行なった。その結果、新規 theonellapeptolide 類縁体を 3 種単離した。Theonellapeptolide 類は 1986 年に沖縄産海綿 *T. swinhoei* より初めて単離された大環状デプシペプチドである。N-メチルアミノ酸や D-アミノ酸の含有率が高いデプシペプチドであり、細胞毒性、免疫抑制活性など様々な生物活性を示す。本研究で得られた 3 種の類縁体は 10 残基目の L-Ala に N-メチル基を有さない theonellapeptolide II タイプの類縁体であり、特に theonellapeptolide IIc は 6 番目の残基に L-アミノ酸を有する初めての theonellapeptolide 類縁体であった。さらに既知 theonellapeptolide 類を含む類縁体 6 種についてヒト膀胱癌細胞に対する増殖阻害活性を評価した結果、栄養飢餓条件下選択的な増殖阻害を示し、特に theonellapeptolide Id が強力な活性を示した。さらに著者は theonellapeptolide 類が非リボソーム依存性ペプチド合成酵素によって生合成されることを予想し、 β -Ala を認識する A domain に特異的なプライマーを設計した。海綿 *T. swinhoei* よりフィラメント状バクテリア画分を調製し、PCR を試みた結果、目的のプライマーに特異的なバンドを検出した。この結果から、theonellapeptolide 類は海綿共生微生物 *Entotheonella* 由来であることが示唆された。

次に著者は難培養微生物を可培養化するために、iChip デバイスの導入を試みた。iChip は小さな細孔を有する中板を半透膜で挟み固定するデバイスである。土壌などで採集した微生物を細孔に閉じ込め、デバイスを土壌に戻して培養することで、原位置培養が可能になる。この手法を用いて、北海道大学札幌キャンパスを中心に土壌細菌の採集および培養を行い、取得した 2 種の *Variovorax* 属の菌株が強力なシデロフォア活性を示した。

シデロフォアの検出評価系である CAS アッセイを用いて *Variovorax* sp. H2 株の代謝物の分画、精製を行なった。その結果、新規 variochelin 類縁体 3 種を単離した。さらに、*Variovorax* sp. B14 株からもシデロフォアの単離を進め、5 種の新規シデロフォアを単離した。これらの化合物はポリケチドを部分構造に含むリポペプチド構造で、シデロフォアに特徴的なヒドロキサム酸を有していた。生産菌のゲノム解析も実施し、非リボソーム依存性ペプチド合成酵素とポリケチド合成酵素で構成される生合成遺伝子を同定した。

以上のように、著者はこれまでに探索事例の少ない未開拓細菌類に着目して、新規天然物の探索を実施した結果、合計 11 種の新規生物活性天然物の単離構造決定に成功した。iChip デバイスやゲノム解析による環境分離株のスクリーニングなど新しい手法を導入して新規天然物の探索研究に展開した。従って今後の天然物探索の新しい手法の開拓に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（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。