



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Isolation and structure elucidation of novel cyanobacterial secondary metabolites using OSMAC approach [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	BALLOO, Nandani
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第15590号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/90729">https://hdl.handle.net/2115/90729</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Balloo_Nandani_review.pdf, 審査の要旨



# 学位論文審査の要旨

博士 (環境科学)

氏名 BALLOO Nandani

審査委員	主査	教授	沖野 龍文
	副査	教授	野呂 真一郎
	副査	准教授	豊田 和弘
	副査	准教授	藤田 雅紀 (大学院水産科学研究院)

## 学位論文題名

### Isolation and structure elucidation of novel cyanobacterial secondary metabolites using OSMAC approach

(OSMAC法を用いた藍藻由来新規二次代謝産物の単離と構造決定)

藍藻は、多種多様な二次代謝産物を生産することで知られ、医薬品や各種機能性物質に応用されることが期待されている。その二次代謝産物の組成は様々な環境条件によって変わることが知られている。藍藻のゲノム解析が進むにつれ、二次代謝産物の生合成酵素が明らかになってきたが、一方で生合成酵素遺伝子は存在するものの、通常の生育条件では遺伝子が発現せず、その遺伝子がコードする酵素によって生産されると予想される化合物が生産されていないケースが少なくないことがわかってきた。このような休眠遺伝子を発現させることができれば、未知の化合物を生産させることができる。各種微生物では培養条件を変えたり、他の種類の微生物と共培養することにより、通常条件では生産されない化合物を生産させるというアプローチがとられ、OSMAC (one strain many compounds)法と呼ばれることがある。OSMACという名称を使わないで同様のアプローチが報告されていることも多く、それらを含めて多くの実績がある。しかし、藍藻では、確かにいくつかの報告でOSMAC法が使われているが、既知の化合物の生産が上昇したとか、未知の化合物が生産されるようになったものの構造未決定という結果に過ぎない。申請者は、通常条件とは異なる環境条件で生産される藍藻由来の新規二次代謝産物の単離と構造決定を試みた。

申請者は、まず500 mLスケールの培養でpH、温度、培地の種類、栄養因子の制限、重金属の添加、エピジェネシス制御物質の添加など各種条件で培養し、LC/MSにより藍藻の二次代謝産物のプロファイルを調べた。その結果に基づき、有望な株の大量培養を実施した。

藍藻*Microcystis aeruginosa* NIES-88を30°Cあるいは37°Cで培養したときにLC/MSにおいて $m/z$  922のピークが大きくなることを見いだされた。この結果を意識して慎重に解析すると既知物質にはない $m/z$  990および1058のピークも見いだされた。一方、高温では有毒物質として知られるmicrocystin LRおよびRRとキモトリプシン阻害物質として知られるmicropeptin C, D, Eの生産が低下することが認められた。また、鉄濃度を下げた場合には $m/z$  1074のピークが出現した。以上の結果を基に申請者はこれらの構造決定を試みた。

*M. aeruginosa* NIES-88を大量培養した結果、 $m/z$  922, 990, 1058のピークの化合物は環状オクタペプチドであり、そのアルギニンのグアニジン基に0~2個のプレニル基が結合して

いることを決定した。これらをargicyclamide C, B, Aとそれぞれ命名した。これらの化合物から、本学位論文には含まれないが藍藻のRiPPsのアルギニンに対して選択性を有する初めてのプレニルトランスフェラーゼの発見につながった。また、*m/z* 1074の化合物はargicyclamide Aのプレニル基の一つがヒドロキシ基に代わった構造であることが推定され、argicyclamide Dと命名された。Argicyclamide AはMRSAなどに対して抗菌性を示す一方で、他の化合物は非常に弱いか、活性を示さなかった。本株はこれまで長年分析された化合物であり、新規化合物が得られるとは思われなかった。OSMAC法を適用したからこそ、新規化合物の単離に到ったといえる。

藍藻*Tychonema bourrellyi* NIES-846から、tychonazoleと命名した新規化合物が単離された。その構造はヒドロキシ化されたオキソヒスチジンとアミノ化されたmethoxyphenyl heptanoic acid残基を有する非常に珍しいデプシペプチド構造であった。3つの不斉炭素の立体配置は未決定ではあるものの、他の不斉炭素はMarfey法などで決定された。本化合物はIC<sub>50</sub> 43 μMで抗酸化活性を示した。本化合物に構造的に近い化合物は、他に海綿から1種のみ報告されているだけである。海綿から単離された化合物も生産者が藍藻である可能性が示唆される。

以上のように、申請者は、藍藻からOSMAC法により初めて新規化合物の構造決定まで到達することができた。得られた化合物の構造の新規性が高く、ユニークな生合成酵素の発見につながるなどOSMAC法の有効性を示した。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。