



Title	酸化酵素による天然物の構造多様性創出機構に関する研究 : ポリケタイドおよびテルペノイド生合成における特異な反応機構の解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	深谷, 充功
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第15636号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90835
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	FUKAYA_Mitsunori_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(理学) 氏名 深谷 充功

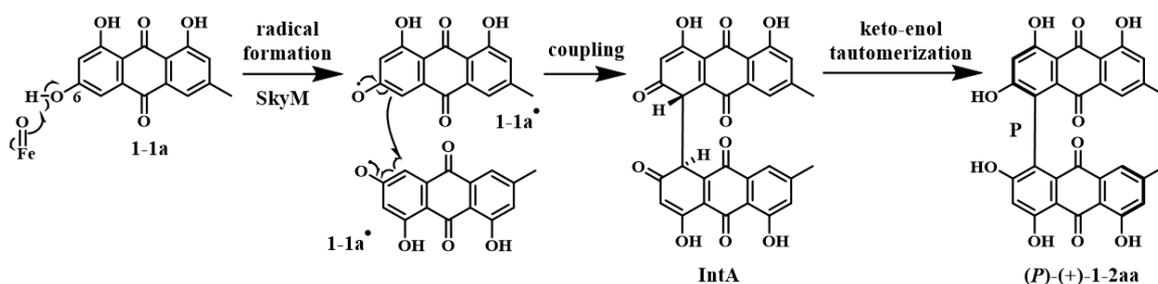
学位論文題名

酸化酵素による天然物の構造多様性創出機構に関する研究：
ポリケタイドおよびテルペノイド生合成における特異な反応機構の解析

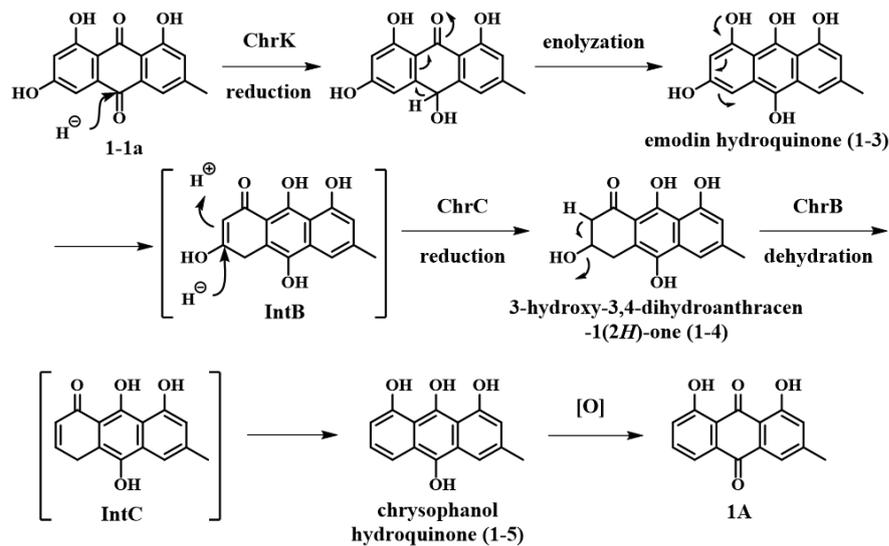
微生物や植物が生産する天然物は、低分子医薬において中心的な役割をはたしている他、「タンパク質間相互作用の制御」「標的タンパク質の分解誘導」などの新しい概念に基づく創薬研究においても重要性が指摘されている天然由来の化合物である。その特徴は、化学構造の多様性にある。化学合成では同等のケミカルスペースを構築することが難しいため、天然物は医薬品などの重要なリソースとして再注目され、「つくる」「さがす」「(機能を) さぐる」に着目した研究が進められてきた。近年では、天然物の主要な供給源である放線菌や糸状菌のゲノム解析も進められ、天然物をつくるための設計図である生合成遺伝子群の「数」が既知天然物の「数」を上回ることが明らかにされつつある。これは、自然界には数多くの未踏分子が発見されずに残されていることを示唆している。こうした背景から、合成生物学的手法を利用した天然物の酵素合成(=異種宿主発現)が注目され、天然物の生合成機構を理解するための基礎的な研究も活発に進められている。

本論文は4章から構成されており、麹菌異種発現系を利用し、機能解析の困難な生合成経路後期にあたる酸化酵素を中心とした修飾酵素の機能解析に取り組んだ。1章では、天然物に修飾を与える酸化酵素に関するこれまでの研究背景と本研究の目的を述べ、2章では *Talaromyces islandicus* が生産するアントラキノン系天然物生合成経路の解明、3章では抗腫瘍性物質 melleolide の生合成機構の解明と特異な二機能性酸化酵素の機能解析を行った。4章は、研究の総括となる。以下がその概要である。

2章では、子囊菌 *T. islandicus* Sopp が生産するアントラキノン系天然物に着目して、生合成遺伝子クラスターの探索、麹菌異種宿主発現系、微生物変換実験、組み換え酵素を用いた *in vitro* 解析による生合成酵素の機能解析を行った。その結果、共通中間体である emodin (1-1a) を基質とした酸化的カップリング反応により対応する2量体を与えるチトクローム P450 を同定し、本酵素が C6 位水酸基を有する単量体を基質としたエナンチオ選択的な反応を触媒することを明らかにした(Scheme 1)。また、1-1a の脱酸素化を担う3種の修飾酵素を同定し、脱酸素化-酸化による構造多様性創出機構を提唱するに至った。この知見により、アントラキノン系天然物の構造多様性構築機構に対する理解を深めることができた。

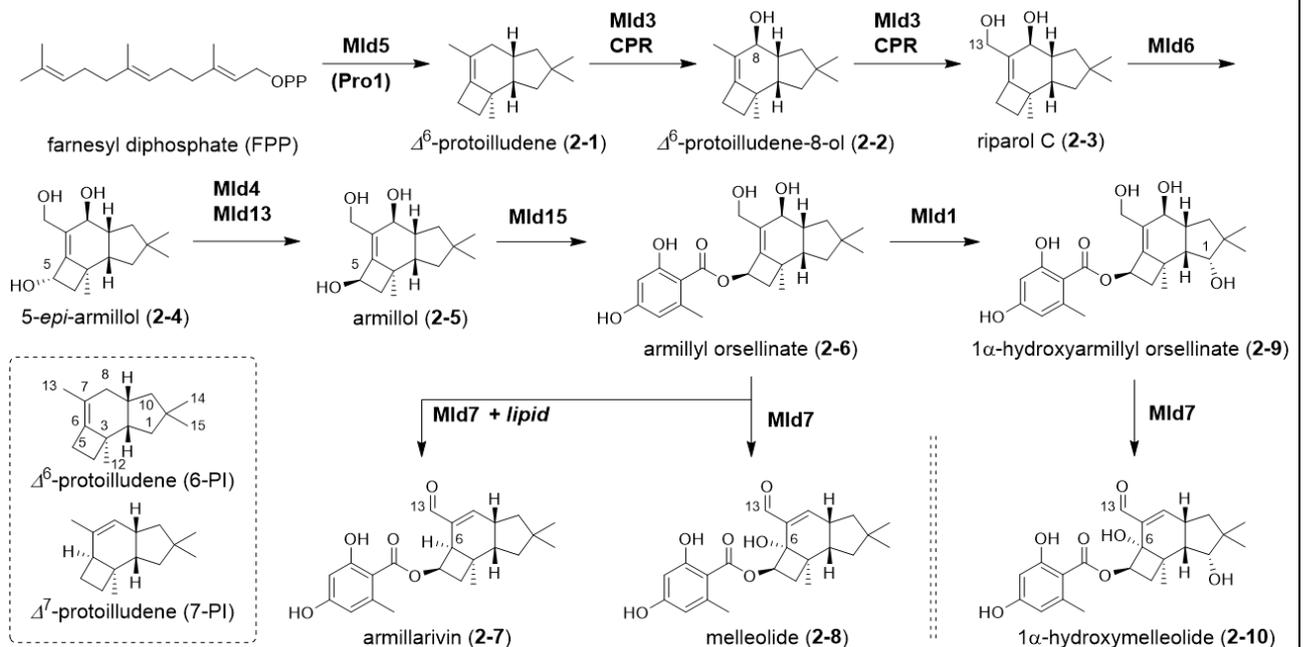


Scheme 1. (a) Dimerization mechanism of anthraquinones in *T. islandicus*



Scheme 1. (b) Biosynthetic pathway of chrysophanol

3章では、担子菌 *Armillaria mellea* が生産する melleolide に注目し、異種宿主発現による生合成中間体の取得と取得した中間体を用いた微生物変換実験や *in vitro* 反応から、生合成後期にあたる armillyl orsellinate から 1 α -hydroxymelleolide への変換に参与する P450 と GMC oxidase ファミリーに分類されるフラビン依存性酸化酵素の同定と機能解析に成功した(Scheme 2)。後者については、膜の有無により反応機構が厳密に制御されることで異なる構造をもつ生成物を与えることを実験的に証明し、70 種類にも及ぶ melleolide 類の構造多様化における鍵酵素であることを示した(Scheme 2)。また、本酵素の発見は、GMC oxidase ファミリーが触媒する反応機能を拡張することにもつながった。さらに、最終産物である 1 α -hydroxymelleolide の異種宿主生産に成功したことは、担子菌由来天然物の異種宿主生産における麹菌異種宿主発現系の利用可能性を示す結果となった。以上の結果から、合成化学的手法による melleolide 類の生産だけでなく、担子菌由来天然物の生合成経路の解明へとつながる知見を得ることができたと考えている。



Scheme 2. Biosynthetic pathway of melleolide and its family members