HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ゲノムマイニングと休眠遺伝子活性化手法を活用した生物活性天然物探索基盤の構築
Author(s)	馬目, 照久
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第16790号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16790
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99635
Type	doctoral thesis
File Information	Teruhisa_Manome_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

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（薬科学）　　氏　名　　馬　目　照　久

審査担当者	主　査	教　授	脇　本　敏　幸
	副　査	教　授	前　仲　勝　実
	副　査	教　授	黒　木　喜美子
	副　査	准教授	松　田　研　一

学 位 論 文 題 名

ゲノムマイニングと休眠遺伝子活性化手法を活用した生物活性天然物探索基盤の構築

博士学位論文審査等の結果について（報告）

細菌は生物活性天然物の重要な探索源であり、これまでに発見された細菌由来天然物をもとに医薬品など有用物質が開発されてきた。それら細菌由来天然物の設計図となる生合成遺伝子はゲノム上でクラスターを形成する場合が多く、その領域を生合成遺伝子クラスター（Biosynthetic Gene Cluster: BGC）と呼称する。近年の細菌ゲノム配列情報の蓄積により、膨大な数の BGC がこれまで見出されてきた一方で、それらの生合成産物のほとんどは未同定である。その結果、産物未知 BGC から所望の天然物を獲得するゲノムマイニングと呼ばれる手法が、近年の天然物探索研究において盛んに用いられている。しかし産物未知 BGC の大半は通常の研究室培養条件では発現しない休眠状態にある可能性が考えられる。そこで、本研究では、効率的な天然物探索基盤を構築するため、生物活性天然物の BGC を予測するゲノムマイニング手法と、細菌由来の細胞外膜小胞（MVs）を活用した休眠遺伝子活性化法の確立を目指した。

従来のゲノムマイニングによる天然物探索研究ででは、生合成酵素の遺伝子配列を利用した手法が主であり、生物活性に着目した手法は、自己耐性遺伝子を利用する手法以外ではほとんど報告例がなく、未開拓な領域である。そこで著者は生物活性天然物の生合成経路に内在する生物活性制御機構に着目した。細菌由来の生物活性天然物の生合成過程では、菌体内で非活性な前駆体が構築されたのち、細胞膜周辺でさらなる修飾などを受け、活性化合物が細胞外に放出される例が数多く知られている。本機構で生物活性発現に関わる活性化酵素は細胞膜周辺に局在し、さらに前駆体の骨格構築を担う生合成酵素群と同じ BGC にコードされている。さらに多くの膜局在タンパク質はシグナルペプチドを有し塩基性の等電点を示す。したがって、膜局在タンパク質をコードする BGC は生物活性天然物を生産する可能性があると着想した。

そこでまず、BGC にコードされる生合成タンパク質の物理化学的特性と生合成産物の生物活性との相関を検証した。約 1,700 の既知天然物の抗菌活性の有無を文献調査するとともに、それら天然物の BGC にコードされる全タンパク質に対し、シグナルペプチドの有無と等電点の値を予測した。それらの結果と生合成産物の抗菌活性の有無との相関を分析した結果、シグナルペプチドを有しかつ 9.2〜11.0 の等電点を示すタンパク質をコードする BGC が抗菌活性天然物の生産に関わる可能性が高いことを見出した。実際に本手法で見出した BGC をコードする 31 細菌種について培養抽出物の抗菌活性を評価することで、本手法の有効性を立証した。さらに、得られた細菌株、*Burkholderia anthina* および *Chitinophaga eiseniae* の培養液から新規抗菌活性天然物を単離し、NMR や MicroED を駆使して、それらの構造を明らかにした。

生物活性天然物の BGC を予測するゲノムマイニング手法により選抜した細菌種のほとんどが抗菌活性を示した一方で、生産量が少ないために単離・構造決定に至らなかった化合物も多数存在した。この原因の一つとして、選抜した細菌種が保有する BGC の多くが休眠状態にある可能性が考えられた。休眠遺伝子の活性化手法として低濃度の抗生物質や異種細菌を単一細菌培養液に添加する手法などが報告されている。それらは細菌を本来の生育環境を模倣した条件で培養することで休眠遺伝子を活性化できることを示唆している。そこで著者はほとんどの細菌が放出し、細菌間相互作用に関わることが知られている細胞外膜小胞（MVs）に着目した。。生産菌が異なる MVs ごとに多様な天然物を生産誘導できる可能性があるため、多様な細菌由来 MVs の休眠遺伝子活性化剤としての汎用性を検証した。その結果、いずれの MVs も多様な細菌種に対し様々な物理化学的性質を示す代謝産物を生産誘導した。また MVs ごとに生産誘導した代謝産物の種類が異なっていることを見出した。以上から、複数種類の MVs が天然物生産誘導活性を有し、それらを使い分けることで多様な天然物を取得できることを明らかにした。さらに実際に同手法を用いて、*Mycolicibacterium parafortuitum*、および *Streptantibioticus cattleyicolor* より 3 種の新規天然物の単離し、それらの構造決定に成功した。

これを要するに、著者は、生物活性天然物の探索において新たな手法を開発したものであり、天然物創薬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（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。