

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 杉 山 靖 正

微生物の二次代謝産物は多様であり、これまでに多くの有用物質を提供してきた。それらの生合成経路を明らかにすることは、微生物自身の代謝生理の解明だけでなく、有用物質の効率的生産にも直接結びつくという点から重要である。多様な微生物代謝産物のなかから、本論文では特にこれまで詳細な研究が行われていなかったシクロペンタン環骨格を有する化合物に着目し、その生合成に関する研究を行った。

まず、序論では生合成研究の方法論およびその有用性を述べた後、糖に由来すると考えられるシクロペンタン環骨格を有する化合物についてこれまでに得られている知見をまとめている。本論文では2つの化合物、トレハゾリンとアロサミジンについて、なかでも特に前者についてその生合成経路を詳細に解析した。

第一部では、トレハラーゼ阻害物質であるトレハゾリンの生合成について述べている。まず、トレハゾリンを構成する炭素および窒素原子の由来について調べた。安定同位体でラベルした化合物が効率よく取り込まれるための培養条件を検討したのち、 $[1-^{13}\text{C}]$ -グルコースの取り込みを ^{13}C -NMR スペクトル解析によって調べたところ、1および1'位の炭素に取り込まれた(図1)。また、 $[6-^{13}\text{C}]$ -グルコースを取り込ませたところ、6および6'に取り込まれた。これらのことから、炭素原子はすべてグルコースに由来することがわかった。一方、窒素原子については、L-[グアニジノ- $^{13}\text{C},^{15}\text{N}_2$]-アルギニンを取り込ませたところ、7'位の4級炭素および2つの窒素が同時にラベルされたことから、アルギニンのグアニジノ基から生じたアミジノ基が切断されることなくそのままの形でアミノオキサゾリン骨格部分に導入されることが明らかとなった。

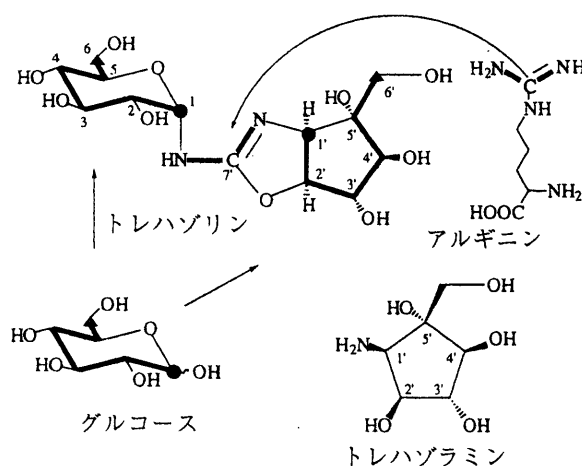


図1 トレハゾリンの生合成

上記の実験から、トレハゾリンのシクロペンタン環部分はグルコースのC-1とC-5の間で環化することが明らかとなったが、その機構について検討した(図2)。すなわち、考えられる3通りの経路(4位酸化経路, 6位酸化経路, フルクトース経路)について、それぞれ[4-²H]-グルコース, [6-²H₂]-グルコースおよび[2-²H]-グルコースの取り込み実験により得られたトレハゾラミンのアセチル化物のNMRおよびESI-MSスペクトルを測定した。その結果, [4-²H]-グルコースからは4'位に, [6-²H₂]-グルコースからは6'位に2つの²Hが取り込まれた。[2-²H]-グルコースについては, 本菌が高いグルコースイソメラーゼを有していたため, 4時間ごとに12回パルス投与したところ, 2'位に²Hが取り込まれた。さらに, [1-²H]-グルコースおよび[1,2,3,4,5,6,6-²H₇]-グルコースの取り込み実験から5位以外はすべて保持されることがわかった。以上のことから, 補酵素が関与し, 一連の酸化還元をあいだに同一の水素のやり取りがあり, 見かけ上水素の移動がないことが示唆された。しかし, [4-²H]-グルコースと[6,6-²H₂]-グルコースを等量取り込ませたところ, 同位体効果により6'位より4'位のほうが取り込みが少なかったことから, 補酵素関与の4位酸化経路が最も有力であることが示された。

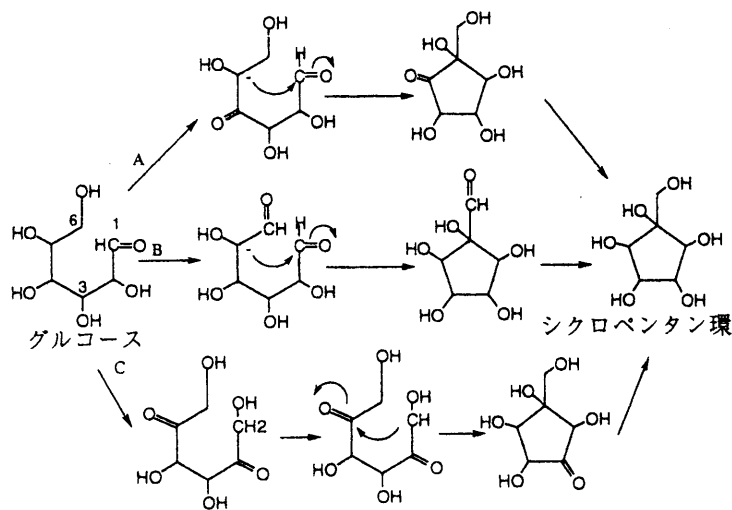


図2 グルコースからのシクロペンタン環生成機構

第二部では, キチナーゼ阻害物質アロサミジンのシクロペンタン環骨格の生合成機構について調べている。(6*R*) および (6*S*)-[6-²H₁]-グルコースの取り込み実験を行った結果, グルコースの6*R*の重水素は6位の *ProS*の位置に取り込まれたが, 6*S*の重水素は取り込まれなかった。このことから, 6位の酸化・還元はそれぞれ立体特異的に起こり, その際に6位の反転を伴うことがわかった。また, [1-²H]-グルコースの取り込み実験と合わせて, シクロペンタン環生成の過程で生じる6-アルデヒド中間体は, シクロペンタン環の環化および5位のデオキシ化, あるいはそのどちらかの反応に関与することが示唆された。

以上, 本論文は微生物の生産する活性物質に含まれる糖由来のシクロペンタン環骨格の生合成機構について新たな知見を提供したもので, 学術上, 応用上貢献するところが少なくない。よって, 審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。