

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 淡川 孝義

ポリケタイドは医薬品資源として注目される化合物群である。微生物ポリケタイドは多くの構造多様性を持ち、その多様性はポリケタイド合成酵素 (PKS) および修飾酵素に由来する。本論文では、微生物ポリケタイド合成反応を担う酵素群より、新規なポリケタイド生合成機構を見出し、機能解析することを目的としている。本研究で得られる知見は、微生物を利用した有用物質生産などの応用にも役立つと考えられる。本論文は全六章より構成される。

第一章では、ポリケタイド合成反応の概略について、これまでの知見をまとめている。PKS は I 型、II 型、III 型に分類されるが、本研究ではこれら 3 つのタイプの PKS をすべて研究対象としている。

第二章では糸状菌由来 I 型 PKS (ACAS) の生成物の酵素からの解離に関わる新規 thioesterase (ACTE) の *in vitro* 機能解析について述べている。代表的な anthraquinone である emodin の生合成に注目して実験を行い、その過程で β -lactamase 型の thioesterase である ACTE を見出した。ACAS は ACTE と共存する時にのみ、atrochryson、endocrocin、emodin を含む anthraquinone を生成物として与えることを *in vitro* 反応で示した。また、反応中間体アナログを用いた反応により ACTE の thioesterase 活性を示し、その金属要求性、活性中心アミノ酸を明らかにした。

第三章では *Streptomyces coelicolor* A3(2) より単離される青色色素である actinorhodin の生成物解離機構の解析について述べている。Actinorhodin 合成酵素は II 型 PKS であるが、その生成物の酵素からの解離機構は未知だった。Actinorhodin 中間体である (S)-DNPA までの生合成経路を *in vitro* で再構成を行うことで、還元酵素 ActVI-1 の反応以降に生成物が解離する新規な生成物解離経路の存在を示唆した。

第四章では糸状菌 *Neurospora crassa* 由来の III 型 PKS である ORAS の触媒する反応の解析について述べている。本研究は、糸状菌由来 III 型 PKS の初の機能解析であった。*in vitro* 反応、速度論解析によって、ORAS は長鎖脂肪酸 CoA エステルと malonyl-CoA より 2'-oxoalkylresorecylic acid を合成する新規 III 型 PKS であることを明らかにした。

第五章では希少放線菌 *Actinoplanes missouriensis* 由来の新規テルペノイド-ポリケタイド融合化合物合成に関わる遺伝子クラスターである *agq* クラスターの機能解析について述べている。

Agq クラスタは III 型 PKS 遺伝子 (*agqA*)、水酸化酵素遺伝子 (*agqB*)、メチル化酵素遺伝子 (*agqC*)、UbiA 型プレニル基転移酵素遺伝子 (*agqD*)より構成される。*agq* クラスタの全部または一部を *Streptomyces lividans*にて異種発現した時に生成される化合物の構造を決定することによって、それぞれの酵素機能を明らかにした。すなわち、AgqA は alkylresorcinol を合成し、この alkylresorcinol を AgqB が水酸化、AgqC がメチル化、AgqD がプレニル化して alkyl-*O*-geranylhydroquinone が合成されることを示した。また、*A. missouriensis* の *agqA* 破壊株を構築し、生体内成分を野生株と比較することで、*A. missouriensis* が *agq* クラスタの機能によって、最終生産物として alkyl-*O*-dihydrogeranyl-methoxyhydroquinone を生産していることを示した。なお本研究で得られたテルペノイドキノン類はいずれも新規化合物であった。

第六章では、本論文で解析された生合成酵素のコンビナトリアル生合成への利用の可能性およびポリケタイド合成反応研究の今後の展望について考察している。

以上、本論文は微生物より見出された新規ポリケタイド合成反応機構に関する研究成果をまとめたものであり、学術上貢献するところが少なくない。また、本成果は応用研究にも貢献する可能性が高い。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。