

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 尾崎 太郎

テルペノイドは炭素数 5 のイソプレネン骨格を基本単位として生合成される化合物の総称である。テルペノイドは、その多様な構造ゆえに様々な生物活性を示し、医薬や農薬、香料など様々な用途で利用されてきた。本論文では、放線菌の生産する新規なテルペノイドの生合成研究を行うとともに、基質特異性が寛容なプレニル基転移酵素を利用して様々なプレニル化芳香族化合物を創成したもので、四章よりなる。

序論では、テルペノイドの生合成について既存の知見をまとめている。また、生合成研究を行うことの意義や、その結果を物質生産へと応用にすることについても展望を記述するとともに、各章における研究の目的について述べている。

第一章では、*S. coelicolor* A3(2)のゲノム上にプレニル基転移酵素遺伝子 *SCO7467*、およびフラビン依存型モノオキシゲナーゼ(FMO)遺伝子 *SCO7468* が並んで存在する機能未知遺伝子クラスターを見出し、その機能解析を行っている。*SCO7467* と *SCO7468* を異種放線菌 *Streptomyces lividans* TK23 に導入することで、*SCO7467* と *SCO7468* によって生合成される最終産物が新規化合物 5-ジメチルアリルインドール-3-アセトニトリル(5-DMAIAN)であることを明らかにしている。続いて、*SCO7467* と *SCO7468* の組換えタンパク質の機能解析を行い、5-DMAIAN の生合成経路を解明することにも成功している。第一章の研究によって、*SCO7467* が L-トリプトファン の 5 位をプレニル化する原核生物由来の初めてのプレニル基転移酵素であること、*SCO7468* が 5-ジメチルアリルトリプトファンを 5-ジメチルアリルインドール-3-アセタルドキシムに変換する新規の FMO であることが明らかにされた。

第二章では、放線菌 *Streptomyces* sp. CL190 の生産するラバンドシアニンの生合成研究を行っている。ラバンドシアニンは抗腫瘍活性やテストステロン 5- $\alpha$  リダクターゼ阻害活性を示すことが報告されている化合物でフェナジンの骨格に窒素原子を介してプレニル基が結合した特徴的な構造を有している。類似の N-プレニル基を有する化合物は他の放線菌からも単離されていたが、それらの化合物に特徴的な N-プレニル基の生合成機構は明らかにされていなかった。また、ラバンドシアニンが有するプレニル基は分岐鎖モノテルペンが環化したシクロラバンデュリル基という特徴的な構造であるが、その生合成機構についても未解明であった。そこで、バイオインフォマティクスを利用して対象遺伝子を絞り込むとともに、各遺伝子の欠損株や組換えタンパク質を詳細に解析することで、ラバンドシアニンの全生合成経路を明らかにした。本章において発見されたシクロラバンデュリルジリン酸合成酵素は、テルペノイドの縮合と環化を同時に触媒す

る新規酵素である。また、本章では新たに発見したフェナジンの *N*-プレニル化酵素の機能も明らかにしている。

第三章では、アミノクマリン系抗生物質ノボビオシンの生合成に関与する *Streptomyces niveus* 由来の NovQ の機能解析を行い、NovQ が 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸のプレニル化を触媒することを明らかにしている。さらに、NovQ の基質特異性について詳細な解析を行い、その結果としてフェニルプロパノイドやフラボノイド、ジヒドロキシナフタレンにプレニル化活性を示すことにも成功している。第三章により NovQ が *p*-クマル酸などのフェニルプロパノイドをプレニル化する活性やフラボノイドの B 環をプレニル化する活性を有する初めてのプレニル基転移酵素であることが明らかにされた。

第四章では、*Cycloclasticus* sp.由来のフェナンスレンジオキシゲナーゼを利用して置換ナフタレン類にフェノール性水酸基を導入することで、プレニル基転移酵素の基質を創出した。合成されたヒドロキシナフタレン類を基質としてプレニル化反応を検討し、結果として3種の置換ナフタレン類を出発物質として、10種のプレニル化誘導体を合成することに成功している。さらに第四章で合成した各化合物の抗酸化活性を測定し、フェノール性水酸基の導入によって抗酸化活性を獲得し、プレニル化によってその抗酸化活性が上昇することも明らかにしている。

以上、本論文はテルペノイドの構造多様性を創出する機構を明らかにし、さらには構造多様なテルペノイドの合成へと応用したものであり、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。