

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 舟橋 賢記

ウラシル含有ヌクレオシド系化合物、mureidomycin、liposidomycin、capuramycinなどは細菌の細胞壁構成成分であるペプチドグリカン生合成の最初のステップを担う translocase I に対する阻害活性を有している。translocase I を標的とした薬剤で上市されたものはなく、既存の薬剤に対する耐性菌の問題から、translocase I は大変魅力的な創薬標的である。本論文は translocase I 阻害剤として放線菌の代謝産物中から見出された複数の化合物 (capuramycin-type 化合物である A-500359 類及び A-503083 類、liposidomycin-type 化合物である A-90289 類) の生合成に関する研究をまとめたものであり、5 章より構成される。

第一章では、A-500359 類の生合成遺伝子の取得及び生産制御について述べている。A-500359 類の高生産株及び非生産株を用いた遺伝子発現解析から、A-500359 類の生合成遺伝子クラスターを見出した。異種発現実験から、aminoglycoside 3'-phosphotransferase ホモログである ORF21 が A-500359 類に対する自己耐性に関与していることが示唆された。さらに、A-500359 類の生産制御には巨大線状プラスミド SGF180 及び、低分子シグナリング化合物様の物質が関与していることが示唆された。

第二章では、A-503083 類の生合成遺伝子の取得及び CapB、CapU の機能解析について述べている。A-503083 類は A-500359 類の 2'-hydroxyl 基に carbamoyl 基が付加した化合物であることから、第一章で得られた A-500359 類の生合成遺伝子群の一部をプローブとして用い、A-503083 類の生合成遺伝子クラスターを取得した。Carbamoyltransferase ホモログである CapB は carbamoyl phosphate を carbamoyl 基供与体として、A-500359 A、A-500359 B からそれぞれ A-503083 A、A-503083 B を生成した。Non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) ホモログである CapU は ATP-PPi 交換アッセイの結果、L-lysine を基質として最も好むことが明らかになった。このことから CapU は aminocaprolactam 環の形成に関与することが示唆された。

第三章では、A-503083 B 生合成における新規なアミド結合形成反応について述べている。Methyltransferase ホモログである CapS は A-503083 F に S-adenosylmethionine 依存的にメチル基を転移し A-503083 E を生成した。また、class C β -lactamase ホモログである CapW は A-503083 E 及び aminocaprolactam 環を基質に amide-ester 交換反応を触媒し、

A-503083 B を生成した。以上の結果から、メチルエステルを介した *S*-adenosylmethionine 依存的アミド結合形成という新規なアミド結合形成機構が明らかにされた。

第四章では、A-503083 類のリン酸化を介した自己耐性について述べている。Aminoglycoside 3'-phosphotransferase ホモログである CapP は A-503083 B への ATP 依存的なリン酸基転移を触媒した。得られた生成物の NMR 解析から転移部位は 3''-hydroxyl 基と同定された。また、3''-phospho-A-503083 B の translocase I 阻害活性は著しく減弱しており、*Mycobacterium smegmatis* への抗菌活性を失っていた。

第五章では A-90289 類の生合成遺伝子の取得及び LipB の機能解析について述べている。生産菌 *Streptomyces* sp. SANK 60405 のドラフトゲノム配列を決定し、A-90289 類の生合成遺伝子クラスターを見出した。遺伝子破壊実験から、aryl sulfotransferase ホモログをコードする *lipB* は sulfate 転移に、rhamnosyltransferase ホモログをコードする *lipB1* は permethylated rhamnose 転移に、serine hydroxymethyltransferase ホモログをコードする *lipK* は基本骨格形成に関与することが示唆された。さらに、LipB は *p*-nitrophenylsulfate を硫酸基供与体とし、desulfo-A-90289 A、uridine 及び 3'-deoxyuridine に硫酸基を一分子転移することを明らかにした。

以上、本論文はウラシル含有ヌクレオシド系化合物である 3 つの化合物群の生合成遺伝子を同定し、新規なアミド結合形成機構及び新規硫酸基転移反応を見出すとともに、A-503083 類に対する自己耐性化機構を明らかにしたものであり、学術的ならびに応用的に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。