

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 上田 大次郎
 学位 博士 (農学)
 学位記番号 新大院博 (農) 第 177 号
 学位授与の日付 平成 30 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博士論文名 *Bacillus* 属細菌由来新規テルペノイド生合成経路の解析と利用

論文審査委員 主査 教授・三ツ井 敏明
 副査 准教授・鈴木 一史
 副査 教授・伊藤 紀美子
 副査 准教授・三亀 啓吾
 副査 准教授・佐藤 努
 副査 名誉教授・星野 力

博士論文の要旨

天然物の中で最も大きなグループの一つがテルペノイドであり、現在 70,000 種以上が知られている。テルペノイドは炭素数 5 単位によって、ヘミ- (C_5)、モノ- (C_{10})、セスキ- (C_{15})、ジ- (C_{20})、セスタ- (C_{25}) トリ- (C_{30})、セスクア- (C_{35})、テトラテルペン (C_{40}) に分類される。当研究室では *Bacillus* 属細菌の生合成研究を行っており、主に新規酵素と新規化合物を発見してきた。学位申請者は希少なテルペノイドである、セスタ- (C_{25}) トリ- (C_{30})、セスクアテルペン (C_{35}) に関する研究を行い、以下 3 つの成果を得た。

1) *B. megaterium* からオノセロイド (スクアレンの両末端の環化で生合成される C_{30} のトリテルペンの総称) の合成酵素を全ての生物種で初めて発見した。さらに、その酵素を利用して、龍涎香 (約 1% のマッコウクジラしか生産しない代謝物であり、香料・漢方薬として利用されてきたもの) の主成分であるアンブレインの酵素合成に成功した。

2) 好アルカリ性の *B. clausii* におけるテルペノイド生合成経路を解析し、 $C_{25} \cdot C_{30} \cdot C_{35}$ を生合成する初めての三機能性イソプレニルニリン酸合成酵素を発見した。また、その酵素はテルペノイドとメナキノンの両方の生合成に関与していることを明らかにした。

3) *B. megaterium* における新規天然物の探索を行ったところ、アセトニル基を持つノルイソプレノイド類である C_{33} のファルネシルファルネシルアセトン天然物としてバクテリアから初めて単離・構造決定した。その生合成はスーパーオキシドによるメナキノン-7 の非酵素的開裂によって行われていることを証明した。さらに、この系を利用して、他の炭素鎖長の生理活性物質 (甲殻類ホルモンと昆虫フェロモン) を枯草菌 *B. subtilis* において生産することに成功した。

本研究によって、*Bacillus* 属細菌において存在するユニークな新規テルペノイド生合成経路が見出された。また、その経路を利用して希少な生理活性物質を合成することにも成功した。

審査結果の要旨

本論文では、*Bacillus* 属細菌における新規テルペノイド生合成経路を解析し、オノセロイド合成酵素と三機能性イソプレニルニリン酸合成酵素を初めて発見した。加えて、アセトニル基を持つノルイソプレノイド類がスーパーオキシドによるメナキノン類の非酵素的開裂によって生合成されることを初めて提案した。したがって、本論文を通して、*Bacillus* 属細菌において存在する 3 種類のユニークな新規テルペノイド生合成経路を発見した。さらに、発見した経路を利用して希少な生理活性物質を合成することにも成功した。

以上の結果は、天然物の生合成に関して新たな知見を提供するものであり、希少生理活性物質の生物合成に貢献できると評価される。本論文の主な内容は、申請者を筆頭著者として以下 2 つの論文に掲載済みである。

Daijiro Ueda, Tsutomu Hoshino, and Tsutomu Sato, Cyclization of squalene from both termini: identification of an onoceroid synthase and enzymatic synthesis of ambrein, *J. Am. Chem. Soc.* (発行所 American Chemical Society), 135 (49), pp 18335-18338, 2013.

Daijiro Ueda, Hiroaki Yamaga, Mizuki Murakami, Yusuke Totsuka, Tetsuro Shinada, Tsutomu Sato, Biosynthesis of sesterterpene, head-to-tail triterpene, and sesquarterpene in *Bacillus clausii*: identification of multifunctional enzymes and analysis of isoprenoid metabolites, *Chembiochem*, (発行所 John Wiley & Sons), 16 (9), pp 1371-1377, 2015.

よって、本論文は博士（農学）の博士論文として十分であると認定した。