

氏名	松井 真		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 8174 号		
学位授与年月日	平成 29年 3月 24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	抗真菌剤FR901469生産菌No. 11243株のゲノム解析と分子育種に関する研究		
主査	筑波大学教授	理学博士	中村 幸治
副査	筑波大学教授	博士 (生物工学)	楊 英男
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	内海 真生
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山田 小須弥

論 文 の 要 旨

糸状菌は、多種の二次代謝産物を産生することが知られており、その中から数多くの医薬品化合物が見つけられている。糸状菌から作られる代表的な抗生物質として、ペニシリン、セファロスポリンがあり、酵素群としては、セルラーゼ、各種のプロテアーゼ、ラクターゼなどがある。加えて、近年、純粋培養法が次々と確立され、新たな有用微生物も多く発見されており、今後も、糸状菌をはじめとする微生物の二次代謝産物は医薬品候補化合物の供給源として重要な位置を占め続けると考えられる。さらに、次世代型ゲノム解析法などの発展により、発見した微生物の全ゲノム配列情報を短期間で決定し、各遺伝子の機能を定義づけることが可能となってきた。これらの情報を基にして、二次代謝産物の生産性の向上を目指した次世代のゲノム育種学も期待されている。一般的に二次代謝産物の生産量は非常に少なく、供給量や生産コストの面で商業化の際に開発の難易度が高いことから、二次代謝産物を利用する製薬企業は減少傾向にある。従って、これまでとは理念を異にする効率的な生産性向上株の作製方法を見出すことができれば、より多くの二次代謝産物が医薬品として利用されていくことが期待される。

本論文において、著者は、所属する機関において医薬品開発のため工業化開発された、抗真菌剤 **FR901469** の生産糸状菌である **No.11243** 株を研究対象として、効率的のよい生産性向上株の育種法について研究を行った。本論文において、著者は、2つの課題を設定した。第一の課題は、将来的な分子育種を目指すため、生産性の向上した株である **No. 11243** の全ゲノム解析を行い、生産性向上に寄与すると期待される遺伝変異を明らかにすることを目的とした。第二の課題として、得られた全ゲノム情報を利用して、生産性向上に関わる遺伝子群の同定を行い、恒常性のメカニズムを推定した。さらに、推定の確からしさを確認するため、ゲノム育種学的方法を用いて変異株を作成し、その生産性を測定した。

第一章ではまず抗真菌剤 **FR901469** 生産性向上変異株の全ゲノム配列解析や親株との配列比較により、変異点解析を行い、生産性向上株で変異が蓄積されている遺伝子機能群の抽出などの解析を実施した。その結果からシグナル伝達、転写関連遺伝子、遺伝子修復に関連する遺伝子に変異が蓄積されていることが明らかとなり、遺伝子変異により細胞内での転写の制御状態が変化し、その結果として **FR901469** の生産性が向上していることが示唆された。続いて実施した変異株のトランスクリプトーム解析では二次代謝やアミノ酸生合成に関わる遺伝子群の発現上昇が見られており、仮説を支持するものであった。さらに、ゲノム上から、**FR901469** の生合成にかかわる遺伝子群の探索を実施し、生合成遺伝子の推定を行うことにも成功した。

第二章では、分子育種による生産性向上株の作製を実施した。生産性向上株作製の第1のターゲットとして、推定 **FR901469** 生合成遺伝子の発現量上昇による生産性向上を試みた。推定 **FR901469** 生合成遺伝子クラスターに含まれる転写因子 *frbF* に注目し、その高発現株を作製した。その結果、野生株に比べて **3.4** 倍の生産性向上株を取得に成功している。また、トランスクリプトーム解析により推定 **FR901469** 生合成遺伝子クラスター内の多くの遺伝子の発現量が向上していることも確認している。次に、生産性向上の第2のターゲットとしてアミノ酸生合成能向上株の作製を行い、アミノ酸代謝の面からの生産性に影響を与える因子探索により転写因子遺伝子 *frcpcA* を見出し、その高発現化により、さらに **1.8** 倍の生産性向上株取得している。トランスクリプトーム解析による比較から、実際に、アミノ酸生合成遺伝子の多くが発現上昇していた。

本研究成果は、**No.11243** 株をモデルに二次代謝産物の生産性向上に関わる遺伝子のゲノム解析による探索と分子育種による生産性向上株作製の具体例を示した。明らかにされた生産性向上に関わる **2** つのターゲット遺伝子 (生合成遺伝子クラスター内転写因子、*cpcA*) は、**FR901469** 以外の二次代謝産物の生産性向上にも効果がある可能性があり、他の様々な二次代謝産物の産業利用に貢献することが期待できる。

著者の研究から、生命産業科学分野において、有効な二次代謝産物を生産することが認められた新規の微生物において、全ゲノム解析に基づく情報を駆使することにより、時間やコストを抑えた効率的な分子育種方法が確立されて、二次代謝産物の産業的利用が促進されていくことが期待できる。

審 査 の 要 旨

本論文では、「抗真菌剤 **FR901469** 生産菌 **No.11243** 株のゲノム解析と分子育種に関する研究」と題して、医薬品候補化合物として有望とみなされるが生産性が低い糸状菌の二次代謝産物の高生産性を目指し、生産菌のゲノム解析とそれに基づくバイオインフォマティクス手法を導入し、高効率な生産システムの確立に成功している。

著者は、所属する機関において見いだされた新規糸状菌の全ゲノム配列情報から、生産性向上に寄与することが期待される遺伝子群を絞り出し、これらの情報を基にして、二次代謝産物の生産性の向上を目指したゲノム育種学を導入して、高生産性に成功した。

著者の研究により、モデル微生物である糸状菌の放線菌などとは異なり、ゲノム情報が少ない有用な新規微生物について、二次代謝産物の新たな生産性向上スキームが確立されたことにより、今後、多くの二次代謝産物が医薬品として開発されていくことを促進すると期待し、本研究は、生命産業分野の発展に大きく貢献すると期待される。

平成 **29** 年 **1** 月 **25** 日学位論文審査委員会において、審査員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。