

氏名	茂本 亮輔		
学位の種類	博 士 ( 農 学 )		
学位記番号	博 甲 第 8 6 0 4 号		
学位授与年月日	平成 3 0 年 3 月 2 3 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	糸状菌が生産する新たな天然物の探索法の開発と利用		
主査	筑波大学教授	博士 ( 農学 )	高谷 直樹
副査	筑波大学教授	博士 ( 工学 )	野村 暢彦
副査	筑波大学教授	農学博士	星野 貴行
副査	筑波大学教授	博士 ( 農学 )	中村 顕

## 論 文 の 要 旨

糸状菌由来の二次代謝産物は有用な生理活性を示すものを多く含むことから、医薬や農薬の探索源として重要である。近年、様々な糸状菌のゲノムDNA配列が解読され、糸状菌のゲノムにはこれまでに発現が認められていない二次代謝産物の生合成遺伝子群が多く存在することが明らかとなった。多くの糸状菌の二次代謝産物の生産は、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) であるサーチュインによって抑制されることから、これらの潜在的な糸状菌の二次代謝産物を発現させるためには、サーチュインの活性を抑制することが有効であると期待される。本論文は、サーチュインの活性を阻害する化合物の単離と利用によって糸状菌由来の新たな二次代謝産物を獲得することを目指したものである。また、一般的に用いられる生理活性を指標としたスクリーニングではなく、二次代謝産物の化学反応性を指標としたスクリーニング手法を用いることによって、糸状菌由来の未知の二次代謝産物を発見できることを明らかにしたものである。

著者は、まず、化学反応性を指標としたスクリーニング手法を用いて糸状菌由来の二次代謝産物を探索し、それらの生理活性を解明した。具体的には、*p*-dimethylaminobenzaldehydeによる呈色反応を指標として、多様な生理活性を有することが知られるアルカロイドの探索を試みた。190種の糸状菌に由来する1,140種の培養抽出物を対象としたスクリーニングの結果、44株の糸状菌に由来する74種の培養抽出物を選抜した。このうち、*Onychophora coprophila* JCM 9495が生産する化合物を精製し、その構造を解析したところ、*onycophoazaphilone*を同定できた。本化合物は新規の構造を有する化合物であり、ヒト由来HeLaおよびHL-60細胞株に対する増殖阻害活性を示したことから、抗がん剤の新たなリード化合物としての利用が期待された。また、*Warcupiella spinulosa* JCM 2358が7-hydroxycordylactamを生産することを発見した。本化合物はラジカル消去活性を示す新規アルカロイドであったことから、抗酸化剤としての利用が期待された。

著者は、次に、*Didymobotryum rigidum* JCM8837の培養抽出物より、糸状菌*Aspergillus nidulans*由来のサーチェーンA (SirA) タンパク質のHDAC活性を阻害する化合物を精製し、5-methylmellein (MM) を発見した。SirAのHDAC活性に対するMMのIC<sub>50</sub>は120 μMであり、この値はニコチンアミドのその50%であった。また、*A. nidulans*の培養にMMを添加することによって、2種の化合物が新たに生産され、5種の化合物の生産量が1.5倍以上増加した。これらの結果から、MMは*A. nidulans*の二次代謝産物の生産を増加させることが示された。同様に、*Emericella nidulans* JCM10259の培養抽出物に含まれるSirAのHDAC活性を阻害する化合物として、既知のポリケチドであるdiorcinol (DO) およびその類縁体を発見した。SirAのHDAC活性に対するDOのIC<sub>50</sub>は 210 μMであり、この値はニコチンアミドのそれと同程度であった。また、*A. nidulans*の培養にDOを添加することによって、本菌の代表的な二次代謝産物であるステリグマトシスチン (ST) の生産量が1.5倍上昇した。さらに、STの生合成に関与する、*stcJ*、*stcU*遺伝子の転写産物の量が2倍以上増加した。クロマチン免疫沈降法により、これらの遺伝子のプロモーター領域のヒストンH4の16番目のリジン残基のアセチル化レベルが上昇することが明らかとなった。SirAの遺伝子破壊株では、STの生産、ST生合成遺伝子の転写およびH4K16のアセチル化に対するDOの影響は見られなかった。以上の結果から、DOがSirAの活性を阻害することによってSTの生産を増加させることが明らかとなった。さらに、DOを添加して培養した7種の糸状菌のうち6種の糸状菌が二次代謝産物の生産を増加させたことから、DOは糸状菌の二次代謝の活性化剤として汎用的に利用できることが期待された。

本論文の研究成果によって、*p*-dimethylaminobenzaldehydeとの化学反応性およびサーチェーン阻害剤の活用が、糸状菌由来の新たな二次代謝産物のスクリーニングに有効な手法となることが示された。これらの手法は、天然物の構造多様性を広げる新たな技術として重要であるとともに、今後の医薬品等の開発研究にも大きく貢献するものである。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、糸状菌が生産する未知の二次代謝産物を獲得するために、2つの新たなスクリーニング手法が有効であることを示したものであり、今後の天然物化学分野に大きく貢献する。これらの手法を活用して得られた二次代謝産物の中には、新規の構造を有する化合物や医薬品原料として期待される化合物が含まれていた。これは、著者が開発したスクリーニング手法が天然物の探索に関わる基礎および応用研究に大きく貢献することを意味する。糸状菌由来の二次代謝産物の多様性を導く本研究成果は、糸状菌による有用物質や毒素の生産を人為的に制御する技術を開発するための基礎的知見を与えるものとしても重要であり、その農学的価値は高く評価できる。

平成30年 1月12日、学位論文審査委員会において、審査委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、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）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。