

氏名	伊東 広哉		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 9081 号		
学位授与年月日	平成 31年 3月 25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	有用糸状菌のゲノム情報を活用したスタチンの新規デザインと効率的な生産		
主査	筑波大学教授	博士 (農学)	高谷 直樹
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	萩原 大祐
副査	筑波大学准教授	博士 (工学)	橋本 義輝
副査	筑波大学助教	博士 (農学)	竹下 典男

論 文 の 要 旨

糸状菌や放線菌などの微生物は、多くの医薬品となるユニークな構造の二次代謝産物を産生するが、これらが実際に利用可能な医薬品となる確率は低い。また、医薬品として活用するためには、これらの二次代謝産物の生産性の改善が解決すべき課題となる。通常、医薬品の商用生産株を開発する際には、変異原処理によるランダム変異の導入によって野生株の生産性を向上させる。この変異株の変異による生産性向上のメカニズムは多くの場合未解明である。本研究では、高脂血症の治療薬として開発が進められてきたスタチンであるFR901512を生産する糸状菌No. 14919とその高生産性の変異株を用い、FR901512の生産メカニズムを解明した。さらに、これら遺伝子と他の関連遺伝子を用いた合成生物学的手法によって新規のスタチン化合物を生産することにも成功した。

著者は、第一章において、まず、糸状菌No. 14919のゲノム塩基配列を解読した。得られた塩基配列のアセンブリ、イントロンの存在を考慮した遺伝子予測、遺伝子のアノテーション解析を実施し、本菌のゲノムがコードする遺伝子情報を整備した。

第二章では、著者は、ゲノム情報から得られたFR901512の推定生合成遺伝子を酵母を用いて発現させ、生合成遺伝子を同定した。さらにこの発現系を用いて、多様なスタチン化合物の生産を試みた。FR901512とその類縁体であるロバスタチンの生合成遺伝子の16通りの組み合わせを作製し、上述の発現系に導入した結果、FR901512とロバスタチンの側鎖が置換された新規化合物を生産することに成功した。

著者は、第三章において、FR901512の高生産に関わる複数の変異を同定した。その結果、Sterol regulatory element binding protein (SREBP) cleavage activating protein遺伝子中のナンセンス変異によって、FR901512の生産量が増加することを示した。SREBPが、これまでに二次代謝産物の生産性に関与するという報告はなく、SREBPが糸状菌において二次代謝産物の生産性向上因子として機能することは興味深い発見であった。また、転写因子の発現量の相関解析により、FR901512の生産を負に制御する転写因子としてDrf1

を見出した。Drf1を高発現させた糸状菌No. 14919では、FR901512の生合成遺伝子の転写が抑制され、FR901512の生産性が90%低下した。Drf1が二次代謝に関わる遺伝子の転写抑制に関与することは新たな発見であった。

本研究は、ゲノム解析と変異株の変異点解析を基盤とすることによって新規有用化合物の生産系をデザインするとともに、目的化合物の生産性を向上させることが可能であることを示した。この戦略は、企業に眠る有用物質の生産菌と高生産性変異株のゲノム解析を起点とすることによって、当該有用物質の高生産株を育種する新たな微生物創薬の戦略として有効であると期待される。この戦略は、創薬だけでなく、農薬、食品、化成品等の微生物生産の分野での技術開発にも大きく貢献するものである。

審 査 の 要 旨

本論文は、スタチンの一種であるFR901512の生合成経路とそれに関わる遺伝子の発現調節機構の解明の研究成果を得た点で学術的価値は高い。また、合成生物学的手法を用いて新規なスタチンの生産に成功した点は独創的である。これらの成果は、糸状菌のゲノム解析技術をいち早く導入した先駆的な研究によるものであり、関連分野の研究をリードするものである。見出された多くの機能遺伝子だけでなく、この成果を導くための研究戦略も優れており、今後の微生物創薬への波及効果も多大である。

平成31年 1月11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（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。