


学位論文審査報告書

報告番号	北里大 甲 第1206号	氏 名	木村 徹
論文審査担当者	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> (主査) 北里大学教授 (副査) 北里大学准教授 (副査) 北里大学准教授 (副査) 北里大学特任准教授 </div> <div> 清原 寛章 岩月 正人 廣瀬 友靖 中島 琢自 </div> </div>		
<p>【論文題目】</p> <p>「放線菌由来二次代謝産物の物理化学的性状による新規天然物の探索」</p> <p>【論文審査結果の要旨】</p> <p>天然物は創薬資源として 1) 新規化合物の発見確率が低い、2) 単離・精製・構造解析に長時間を要する、3) 誘導体合成が困難、などの理由から、医薬品探索はコンビナトリアルケミストリーによる化合物合成とそのライブラリーを用いたハイスループットスクリーニングが主流となっている。ところが、期待されたほど誘導体の構造多様性が得られず、成果が出ていない。そこで医薬品のリードとなる新規構造の化合物を微生物代謝産物に求める機運が高まりつつある。</p> <p>このような背景のもと、学位申請者は放線菌培養液を LC/UV/HR-ESI-MS で分析し、化合物特有な物性を指標に、より効率的に新規物質を探索する手法である physicochemical (PC) screening を確立した。ごく最近では、他の研究グループにおいても、質量分析を用いた培養液のプロファイリングによる二次代謝産物の多様性解析やモレキュラーネットワークキングという新たな手法が考案され、試行されてきているが、実施例は極めて少なく、これらの研究の先駆けとして申請者は PC screening の有用性に関する実証研究を行った。</p> <p>申請者は 3 つの異なった微生物資源ライブラリーを用いて、含有される二次代謝産物について LC/UVHR-ESI-MS で分析し、5 種 7 化合物の新規物質の発見に至り、本研究を通して、PC screening の効率的な探索法としての意義付けに至っている。</p> <p>【PC screening の確立】放線菌の培養液には数多くの二次代謝産物が含まれている。生物活性を指標としたスクリーニングでは、その二次代謝産物のごく一部しか把握できず、有用な物質を見逃す可能性がある。一方、PC screening は二次代謝産物を物質ベースで解析するため、放線菌が生産する二次代謝産物を網羅的に解析することができる。放線菌の培養液</p>			

抽出物を LC/MS で分析することで、標的とする化合物の分子組成、MS/MS フラグメント、UV 極大吸収など、得られた物性情報を天然物データベースで検索することにより新規性を推定する。新規と推定された二次代謝産物は大量培養し、化合物の精製・構造決定へと展開する。得られた新規物質は化合物の物性情報や生物活性を測定することで、その有用性を判断する。この手法を確立したことで放線菌培養液から約 8 割以上の確率で新規物質を取得することができた。既知物質として得られた化合物は、培養液に含まれる化合物の親 MS 値の見誤りや研究途中で他の研究機関から報告された化合物である。

学位申請者の新規物質探索には以下の 3 通りの特徴を持つ微生物資源を用いた。1) 自ら植物の根および根圏土壌より放線菌を分離し、単離できた放線菌から希少放線菌のみを選択したライブラリー。2) 北里大学海洋バイオテクノロジー釜石研究所 (MBI) に保存されている希少放線菌を系統分類し、グループ化したライブラリー。3) 北里生命科学研究所が生物活性物質生産菌として長期保存したライブラリー。













1) 植物および根圏土壌からの希少放線菌：約 400 株の放線菌を植物の根および根圏土壌より分離し、16S rRNA 塩基配列をもとに希少放線菌を選択した。その希少放線菌を複数の生産培地で培養し、その培養液抽出物をサンプルとして PC screening により *Actinomadura* sp. K13-0306 株から新規物質 *sagamilactam* を見いだした。*Sagamilactam* は 34 員環ラクタム化合物でこれまで報告されているラクタム化合物で最も大きい物質であると同定した。

2) MBI 保存希少放線菌：MBI に保存されている希少放線菌を属ごとに分類し、各属の代表株を約 30 株選択した。当該株を複数の生産培地で培養し、その培養液抽出物をサンプルとして PC screening により、*Mumia* sp. YSP-2-79 から *mumiamicin* および *Actinomycetospora* sp. YM25-058 から *tatemasporine* を見いだした。*Mumiamicin* は放線菌初のフラン脂肪酸であり、*tatemasporine* はインドリジンとキノリンが結合した新規骨格化合物であると同定した。

3) 北里生命研長期保存放線菌：4 培地で培養した約 300 株の培養液抽出物の LC/UV/MS データを解析し、*dityromycin* 生産菌 *Streptomyces* sp. AM-2504 株から新規物質 *virantmycin* B および C を取得した。これらは *virantmycin* の基本骨格であるテトラヒドロキノリンおよびインドリン骨格にヒドロキシサイクロペンテンが結合した報告例が少ない化合物であった。*Mangromicin* 生産菌 *Lechevalieria aerocolonigenes* K10-0216 株から新規チアゾリルピリジン化合物 *pyrizomicin* A および B を見いだした。また、本化合物の生合成遺伝子を同定し、その生産に転写制御因子 LuxR ファミリータンパク質が関与していることを明らかにした。

このように、学位申請者は PC screening を新規物質探索の手法として構築し、放線菌から 5 種 7 化合物の新規物質を発見した。また、希少放線菌の物質生産能力の高さを明らかにした。*Pyrizoicin* においては生合成研究まで行い、その発現に転写制御因子 LuxR ファミリータンパク質が関与していることを突き止めた。本研究は創薬科学分野の進展に大きく寄与するものであり、博士 (生命科学) の学位を授与するに値するものと判断した。

最終試験結果報告書

報告番号	北里大 甲 第 1206 号	氏 名	木村 徹																
論文審査担当者	<table><tr><td>(主査)</td><td>北里大学教授</td><td>清原 寛章</td><td></td></tr><tr><td>(副査)</td><td>北里大学准教授</td><td>岩月 正人</td><td></td></tr><tr><td>(副査)</td><td>北里大学准教授</td><td>廣瀬 友靖</td><td></td></tr><tr><td>(副査)</td><td>北里大学特任准教授</td><td>中島 琢自</td><td></td></tr></table>			(主査)	北里大学教授	清原 寛章		(副査)	北里大学准教授	岩月 正人		(副査)	北里大学准教授	廣瀬 友靖		(副査)	北里大学特任准教授	中島 琢自	
(主査)	北里大学教授	清原 寛章																	
(副査)	北里大学准教授	岩月 正人																	
(副査)	北里大学准教授	廣瀬 友靖																	
(副査)	北里大学特任准教授	中島 琢自																	
<p>[成績]</p> <p>合 格</p> <p>[試験結果の要旨]</p> <p>試験担当者は、木村 徹 氏に対し、学位論文内容及び関連事項に関し試問を行った結果、合格と判断した。</p> <p style="text-align: right;">以 上</p>																			