

氏名	PANARAT ARUNRATTIYAKORN		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	学術		
学位授与番号	博甲第3414号		
学位授与の日付	平成19年 3月23日		
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Studies on Biological and Chemical Conversion of Microbial Secondary Metabolites (微生物二次代謝産物の生化学的変換及び化学的変換に関する研究)		
論文審査委員	教授 神崎 浩	教授 中島 修平	教授 稲垣 賢二 助教授 仁戸田照彦

学位論文内容の要旨

The aim of this thesis is to establish cyclic dipeptide (CDP) detection method and to apply the developed method to screen for CDP-producing microbe. In the developed method, CDPs are detected by the combination of (i) conversion of CDPs to dehydro derivatives (Δ CDPs) by cyclo(Leu-Phe) oxidase, and (ii) detection of the Δ CDP by UV spectrophotometry using TLC or HPLC analysis based on the absorbance change caused by the conversion. After examination of 169 and 114 crude extracts of soil isolates and basidiomycetes, respectively, using this method, one actinomycete and two basidiomycete strains were found as CDP-producing microbes. The produced CDPs of isolated actinomycete strain A8 were purified from the culture extract by enzymatic detection-guided fractionation, and their structures were determined to be cyclo(L-Phe-L-Pro) (CFP), cyclo(L-Pro-L-Tyr) (CPY) and cyclo(L-Ala-L-Leu) (CAL) by spectroscopic methods. Although both CPY and CAL were not effectively converted their respective dehydro derivatives (approximately 20-25%) and only small amounts of CAL (less than 1 mg in 3 liter microbial culture) was produced by the microbe, both compounds could be detected using this developed method due to the high intensity for UV absorption of Δ CDPs and wide substrate specificity of CFL oxidase. Therefore, this screening method is a useful tool for screening of CDPs from natural resources. Furthermore isolated CDP-producing basidiomycetes, *Lentinula edodes* and *Creolophus cirrhatus* were also found to produce CFP. This is the first report on a basidiomycete producing CDP. Dehydro derivatives of CDP isolated in this study were prepared and tested their inhibitory activity of the first cleavage of sea urchin eggs. CAAL, CAPAY, and CAAAL which were prepared from the corresponding CDP by CFL oxidase exhibited no inhibitory activity (MICs of these compounds are > 25 μ g/ml). Their activity was compared with those of other Δ CDPs previously prepared in my laboratory for study on structure activity relationship. During examination of CDP in microbial extracts by enzymatic-conversion, hyphodermins, secondary metabolites of *Basidioradulum radula*, were found to react with ammonium ion in enzyme fraction. This reaction of hydrodermins might be useful for chemical synthesis by other means and it might be a model of drug metabolism due to these compounds was reported as potential drug.

論文審査結果の要旨

本学位論文提出者の研究室では二次代謝産物の構造を変換させることにより、生理活性が増強される化合物が存在することを示してきた。本論文では、その研究の一環として、酵素変換することのできる微生物二次代謝産物に焦点を当てている。

まず、環状ジペプチドを脱水素型に変換する酵素 CFL 酸化酵素の基質特異性が非常に幅広く、生成する脱水素型化合物が特徴的な UV 吸収を示すという現象に着目し、環状ジペプチドの存在を酵素変換と HPLC-UV 検出により特異的に確認する新規の方法を確立し、その方法により土壌より単離した微生物から、環状ジペプチド生産菌を見いだすことに成功した。この微生物が生産する環状ジペプチドを3種類単離し、それらの構造を決定するとともに、酵素変換により生じる脱水素体を調製した。それらの細胞分裂阻害活性を測定し、既に調製した他の脱水素型環状ジペプチドの活性と比較することにより、構造活性相関研究に新たな知見を加えた。この酵素反応を用いる環状ジペプチドの検出法は生理活性の有無に関係なく新規の化合物を見いだすことができる点、またそれら化合物の脱水素体を調製できる点で、応用面での利用が大いに期待される。

次に、この手法を、キノコ類100菌株に対して適用したところ、変換される化合物を生産する菌株を見いだした。その化合物3種類の構造を決定し、1種の化合物については変換生成物2種類の構造も明らかにした。さらに、その構造から本反応が酵素により触媒されるものではないことが推測され、酵素標品中に含まれるアンモニアイオンにより進むことを明らかにした。生成物は新規化合物であり、その生理活性に注目され、アンモニアイオンにより反応が進行する現象は、類似の構造を有する生理活性物質の体内での代謝に関して新たな知見を与えた。

以上のように本論文は世界的に天然物有機化学分野に新たな知見を複数与えている点に加え、内容の一部が、国際的な論文誌に二報掲載されている点、さらに国際学会で5回、国内学会で2回発表を実施していることを考慮し、博士の学位に見合うものと判定する。