



Title	抗寄生虫薬生産菌における新規放線菌ホルモンの発見とホルモンリセプターによる二次代謝制御機構の解析
Author(s)	宮本, 聖子
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/26861">https://hdl.handle.net/11094/26861</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	宮本聖子
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第24972号
学位授与年月日	平成23年12月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科生命先端工学専攻
学位論文名	抗寄生虫薬生産菌における新規放線菌ホルモンの発見とホルモンリセプターによる二次代謝制御機構の解析
論文審査委員	(主査) 教授 仁平 卓也 (副査) 教授 原島 俊 教授 福崎英一郎

### 論文内容の要旨

放線菌は、二次代謝産物として抗生素質や抗がん剤など多種多様な生理活性物質を生産する。この二次代謝産物の生産は、低分子シグナル物質である放線菌ホルモンを起点とした信号伝達機構の制御を受けることが知られている。放線菌ホルモンは転写抑制因子でもあるリセプタータンパク質への結合を初発段階とし、最終的に二次代謝関連遺伝子の転写を誘導する。しかしながら、リセプターとの結合以降、どのような信号伝達を経て生理活性物質の生産が開始されるのか、その詳細には不明な点が多い。放線菌 *Streptomyces avermitilis* は、寄生虫感染症の治療薬および家畜駆虫薬として全世界で使用されるエバーメクチン (AVM) を生産する。本菌のゲノム上には、5つのリセプターホモログ (*AvaR1/R2/R3* と *AvaL1/L2*) がコードされることから、AVM 生産を含む二次代謝の制御メカニズムに放線菌ホルモンとそのリセプターが関与している可能性が考えられた。そこで本研究では、*S. avermitilis* における放線菌ホルモンを同定すると同時に、リセプターホモログの機能を解析し、放線菌の分子育種につながる知見を得ることを目的とした。

第2章では、リセプタータンパク質 *AvaR1* によって認識される放線菌ホルモン *avenolide* を同定した。*Avenolide* は AVM 生産を 4 nM という最小有効濃度で誘導したこと、またこれまでに報告されている放線菌ホルモン特有の  $\gamma$ -ブチロラクトン骨格を持たず、ブテノライド骨格を有し、その側鎖構造も大きく異なっていたことから、*avenolide* は新規放線菌ホルモンであると結論した。第3章では、リセプターホモログ *AvaR3* の機能解析を行った。*AvaR3* は AVM 生合成遺伝子の転写活性化により AVM 生産を正に制御し、抗真菌物質 フィリピンの生産を間接的に抑制することが明らかとなった。また *AvaR3* は抗生素質の生産に加えて、形態分化および菌糸の凝集をも制御することから、グローバル因子として機能することがわかった。第4章では、リセプターホモログ *AvaL1* の機能解析を行った。*AvaL1* は 転写制御因子 *VmlI* の発現調節を介して、ゲノム上に離れて位置する2つの二次代謝産物生合成遺伝子クラスター (*pks3-vmj* と *pks4*) の転写を制御することが明らかとなった。また、*avenolide* とは異なる放線菌ホルモン様物質が *AvaL1* に作用することが判明した。

本研究により *S. avermitilis* の二次代謝調節機構には、新規放線菌ホルモン *avenolide* により AVM 生産を調節する *AvaR* 制御系と、2つの生合成クラスターを転写調節する *AvaL* 制御系の少なくとも2種類の放線菌ホルモン制御系があることを明らかにした。*Avenolide* の発見は、AVM の生産性向上だけでなく、その投与などにより他の放線菌の二次代謝活性化にもつながると期待できる。また、複数の放線菌ホルモン制御系による二次代謝調節は放線菌に普遍的であると考えられるため、今後、本研究成果を元に、生理活性物質の選択的生産、または医薬品開発へと繋がる化合物の新たな発見がより一層加速することが期待される。

### 論文審査の結果の要旨

本論文では、抗生素質や抗がん剤など多種多様な生理活性物質を二次代謝産物として生産する *Streptomyces* 属放線菌において、二次代謝産物生産の制御メカニズムを明らかにすることを目指している。*Streptomyces* 属放線菌の二次代謝産物生産は、低分子シグナル物質である放線菌ホルモンを介した信号伝達機構の制御を受けることが知られている。この制御系では、放線菌ホルモンとそのリセプタータンパク質との相互作用が初発段階となり、最終的に二次代謝関連遺伝子の転写が誘導されるが、どのような信号伝達を経て生理活性物質の生産が開始されるのか、その詳細には不明な点が多い。本論文では、寄生虫感染症の治療薬および家畜駆虫薬として全世界で使用されるエバーメクチンの生産菌、*Streptomyces avermitilis* を研究対象とし、本菌のゲノムにコードされたリセプタータンパク質ホモログの機能解析および、リセプターが認識する放線菌ホルモンの同定により二次代謝制御機構への理解を深め、放線菌の分子育種につながる知見を得ることを目的としている。

本論文を要約すると以下の通りである。

1. リセプタータンパク質 *AvaR1* によって認識される放線菌ホルモン *avenolide* を同定している。*Avenolide* は 4 nM という最小有効濃度でエバーメクチン生産を誘導したこと、また  $\gamma$ -ブチロラクトン骨格を有する既知放線菌ホルモンとは異なり、ブテノライド骨格を有していたことから、*avenolide* は新規放線菌ホルモンであることを明らかにしている。
2. リセプタータンパク質ホモログ *AvaR3* の機能解析により、*AvaR3* は生合成遺伝子群の転写活性化を介してエバーメクチン生産を正に制御し、抗真菌物質 フィリピンの生産を間接的に抑制することを明らかにしている。また *AvaR3* は、形態分化および菌糸の凝集をも制御することから、グローバル因子として機能することを明らかにしている。
3. リセプタータンパク質ホモログ *AvaL1* の機能解析により、*AvaL1* は 転写制御因子 *VmlI* の発現を調節して、ゲノム上に離れて位置する2つの二次代謝産物生合成遺伝子クラスター (*pks3-vmj* と *pks4*) の転写を制御することを明らかにしている。また、*avenolide* とは異なる放線菌ホルモン様物質が *AvaL1* に作用することを示している。

以上のように本論文は、*S. avermitilis* の二次代謝調節機構には、新規放線菌ホルモン *avenolide* によりエバーメクチン生産を調節する *AvaR* 制御系と、2つの生合成クラスターを転写調節する *AvaL* 制御系の少なくとも2種類の放線菌ホルモン制御系があることを明らかにしている。*Avenolide* の発見は、エバーメクチンの生産性向上だけでなく、その投与などにより他の放線菌の二次代謝活性化にもつながると期待できる。また、複数の放線菌ホルモン制御系による二次代謝調節は放線菌に普遍的であると考えられるため、今後、本研究成果を元に、生理活性物質の選択的生産、または医薬品開発へと繋がる化合物の新たな発見がより一層加速することが期待される。よって本論文は博士論文として価値があるものと認める。