



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Pleiotropic control of secondary metabolism and morphological development by KsbC, a butyrolactone-autoregulator receptor homologue in <i>Kitasatospora setae</i> |
| Author(s)    | Aiyada, Aroonsri  |
| Citation     | 大阪大学, 2012, 博士論文  |
| Version Type | VoR   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/27557">https://hdl.handle.net/11094/27557</a>   |
| rights       |   |
| Note         |   |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|               |   |
|---------------|---|
| 氏 名           | アイヤダー アルンスリ<br>Aiyada Aroonsri  |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (工学)  |
| 学 位 記 番 号     | 第 2 5 7 1 2 号   |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 24 年 11 月 22 日   |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>工学研究科生命先端工学専攻   |
| 学 位 論 文 名     | Pleiotropic control of secondary metabolism and morphological development by KsbC, a butyrolactone-autoregulator receptor homologue in <i>Kitasatospora setae</i><br>(放線菌 <i>Kitasatospora setae</i> におけるオートレギュレーターレセプター型制御因子 KsbC の二次代謝及び形態分化への関与) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 仁 平 卓也<br>(副査)<br>教 授 藤 山 和 仁 教 授 原 島 俊 教 授 福 崎 英 一 郎<br>教 授 渡 邊 肇 教 授 福 井 希 一 教 授 村 中 俊 哉<br>教 授 大 竹 久 夫 教 授 紀 ノ 岡 正 博 教 授 金 谷 茂 則<br>教 授 永 井 健 治  |

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、有用物質を生産する*Kitasatospora*属放線菌の二次代謝制御機構について、遺伝子または物質レベルでの解析を行い、二次代謝産物の生産調節を担う制御因子の機能を解明すると同時に、新規物質とその生合成遺伝子を同定し、その生合成メカニズムの推定から、放線菌の属を超えた二次代謝制御機構の普遍性や相違性と、物質生合成の新たな反応酵素系について論じたものであり、全体を 4 章で構成している。

第 1 章は、緒論であり、抗生物質などの有用物質生産における放線菌の優位性を述べ、代表的な *Streptomyces* 属放線菌や *Kitasatospora* 属放線菌を含む稀少放線菌などの、二次代謝に注目した諸性質について論じた。次に、*Streptomyces* 属放線菌の二次代謝制御機構において、中心的な位置を占める特定低分子によるシグナル伝達機構について、各々のシグナル機構についてシグナル分子（ブチロラクトン型自己調節因子）とシグナル受容体の機能について述べた。最後に、本論文で明らかにした新規β-カルボリン化合物の産生生物分布、その薬理効果と生合成機構に関する研究状況について述べた。

第 2 章では、*Kitasatospora* 属放線菌のうち、有用物質パフィロマイシンを生産する *Kitasatospora setae* において、ブチロラクトン型自己調節因子の受容体タンパク質をコードすると推定される *ksbC* 遺伝子の機能解析を行った。系統樹解析の結果、KsbC タンパク質は、*Streptomyces* 属放線菌の受容体タンパク質群と同一のクレードに属するものの、最も外側に位置することがわかった。したがって、既知の *Streptomyces* 属受容体と機能が異なる可能性を明らかにした。また、*ksbC* 遺伝子の機能破壊株の表現型

解析から、*ksbC*遺伝子がバフィロマイシンと未知化合物Xの両生産に関与するのと同時に、気中菌糸形成などの形態分化にも関与していることを明らかにした。*Streptomyces*属受容体機能と比較して、二次代謝と形態分化に対する複雑な制御機能をKsbC受容体が担うことを示した。

第3章では、第2章で発見した未知化合物Xの化学構造を知るために、精製物を調製し、そのNMRスペクトラムなどの光学的情報を取得した。取得情報に基づき、未知化合物Xの化学構造を推定したところ、今までに報告されていない新規 $\beta$ -カルボリン化合物であることを明らかにし、未知化合物Xをキサセタリンと命名した。異種発現系を用いた化合物解析から、キサセタリン生合成に関わると予想される遺伝子を複数、獲得した。これらの遺伝子が $\beta$ -カルボリン化合物の生合成系に関与するという報告はなく、細菌由来の $\beta$ -カルボリン生合成遺伝子の取得に、初めて成功した。

第4章は、結論であり、本研究で得られた諸結果を総括した。まず、放線菌の二次代謝制御機構について、属レベルでの特徴を述べると共に、本論文で明らかにした二次代謝の新たな制御メカニズムについて示した。最後に、本成果をもとにした遺伝子工学的手法による新規薬剤の開発など合理的な薬剤デザイン方法について述べた。

## 論文審査の結果の要旨

多数の有用生物活性物質を生産する微生物である放線菌では、多様な化合物の生産に関わるとされる生合成遺伝子群が30近くゲノム上に休眠している。これらの休眠遺伝子群を活用できれば、様々な有用化合物を発掘することが可能になる。それには、放線菌が有用化合物をどのようにして生産しているかを理解することが重要である。したがって、大多数の有用化合物が二次代謝産物として生産されることから、放線菌の二次代謝制御機構を遺伝子レベルで解明することが鍵となってくる。本論文は、*Kitasatospora*属放線菌の二次代謝制御機構について、遺伝子または物質レベルでの解析を行い、二次代謝産物の生産調節を担う制御因子の機能を解明すると同時に、覚醒された新規物質とその生合成遺伝子を同定したものである。得られた知見を要約すると以下の通りである。

- 1) 有用物質バフィロマイシン生産菌 *Kitasatospora setae*において、二次代謝誘導シグナル分子の受容体の機能を遺伝子レベルと物質レベルの解析から明らかにしている。これらの解析から、この受容体が既知制御モデルとは異なる複雑な機能を、二次代謝と形態分化において発揮していることを新しい知見として得ている。また、受容体の機能変異により、物質の新たな生産誘導を検出したことから新規物質探索系の新たな方法を提示している。
- 2) 受容体変異による二次代謝制御経路の改変から産生した化合物の化学構造を同定し、生産誘導された化合物が今までに報告されていない物質であることを明らかにし、キサセタリンと命名した。異種発現系を用いた化合物解析から、キサセタリン生合成に関わる複数の新規遺伝子を獲得し、キサセタリンの基本骨格形成に関わる遺伝子単離として、細菌において初めて成功している。

以上のように、本論文では、新規化合物を探索するために必要と考えられる放線菌の二次代謝制御機構に関わる遺伝的情報を集めるために、シグナル受容体の機能、その制御経路の改変による新規物質生産に関するさまざまな知見が示されている。本研究で得られた成果は、生物活性物質の探索系構築に貢献するとともに、放線菌二次代謝制御に新たな概念を提示するなどインパクトある影響を与えるものと期待される。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。