



Title	ストレプトマイシン生産菌の分子育種に関する基礎研究
Author(s)	大貫, 哲男
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35539
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	おお 大	ぬき 貫	てつ 哲	お 男
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	7408	号	
学位授与の日付	昭和61年7月30日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	ストレプトマイシン生産菌の分子育種に関する基礎研究			
論文審査委員	(主査) 教授 合葉 修一			
	教授 大嶋 泰治	教授 岡田 弘輔	教授 田口 久治	

論文内容の要旨

本論文は、ストレプトマイシン生産菌 *Streptomyces griseus* における宿主・ベクター系の開発及びストレプトマイシン生産遺伝子のクローニングとその機能を論じたもので、序論と本論（5章）及び総括と展望からなっている。

抗生物質生産菌の多くが属する放線菌の宿主・ベクター系開発の現状など研究の背景を序論でまとめ、第1章では、土壌放線菌から分離した pOA15 など 6 種類のプラスミドが *S. griseus* を形質転換する際ボックス形成能をもつことを明らかにしている。

第2章では、オキシテトラサイクリン生産菌 *Streptomyces rimosus* 由来の2種のテトラサイクリン耐性遺伝子 (*tetA*, *tetB*) をそれぞれ pOA15 にクローニングし、テトラサイクリン耐性を選択マーカーとする pOA154 などの *S. griseus* におけるベクタープラスミドを構築している。

第3章では、ストレプトマイシン非生産変異株を多数分離し、そのうちストレプトチヂンを培地に補足するとストレプトマイシン生産能を回復する streptidine idiotroph 8 株とストレプトマイシン非生産・感受性1株について解析し、各変異株が生合成経路中、欠損する酵素反応を推定している。

第4章では、ストレプトマイシン生産経路中の一酵素 amidinotransferase を精製し、これが分子量約 42,000 の単量体であることを明らかにしている。

第5章では、amidinotransferase 欠損変異株と pOA154 をそれぞれ宿主菌とベクターに用い、この変異株のストレプトマイシン生産能を回復させる DNA 断片を野生株の染色体からクローニングしている。又、この DNA 断片上には少なくとも4つのストレプトマイシン生産遺伝子 (*strRABC*) がコードされていること、特に *strR* にはストレプトマイシン生産遺伝子の発現に必須な正の調節因子がコードさ

れていることを発見している。さらに、ストレプトマイシン生産菌の分子育種の意義と今後の課題を総括と展望で述べている。

論文の審査結果の要旨

本論文は、ストレプトマイシン生産菌 *Streptomyces griseus* ATCC 10137 における宿主・ベクター系の開発及びストレプトマイシン生産遺伝子のクローニングさらにこれらの生産遺伝子の機能それぞれに関する基礎的知見をまとめたもので、その主な成果は次のごとくである。

- (1) 土壌放線菌から調製した種々のプラスミドで *S. griseus* の形質転換を試みた結果、*S. griseus* でポック形成能を示す pOA15 (10 kb, コピー数約 20) など 6 種類のプラスミドをえている。*S. griseus* から調製したポック形成プラスミドにはその種類によらず $10^7 / \mu\text{g DNA}$ の高頻度の形質転換能があり又 *S. griseus* 中で安定に保持されることを確かめている。
- (2) *S. remosus* のテトラサイクリン耐性遺伝子を *S. griseus* (宿主菌) 中で pOA15 にクローニングし、*S. griseus* における、テトラサイクリンを選択マーカーとするベクタープラスミド pOA154 などを用意している。なお、クローニングされたテトラサイクリン耐性遺伝子には 2 種類があって *tetA*, *tetB* と名付け、蛋白質合成系及びテトラサイクリン取込み系を用い、これらの遺伝子がコードする耐性機能の違いを明らかにしている。
- (3) *S. griseus* から紫外線照射で streptidine idiotroph の S D 141, S D 245 など 8 株及び $\text{Str}^- \text{Str}^s$ 1 株 (S M 196) を分離している。これら streptidine idiotroph が蓄積する生合成中間体の同定と streptidine 生合成酵素の活性測定から、各変異株が欠損する酵素反応、すなわち、S D 141 ではアミディノ化、S D 245 では streptidine 6-phosphate と dihydrostreptose の連結反応、S M 196 では streptomycin 6-phosphotransferase の低下と amidinotransferase の欠損を確かめている。
- (4) Amidinotransferase 欠損株 S D 141 を相補する DNA 断片を、*S. griseus* 染色体 DNA から pOA154 へクローニングした結果、組換えプラスミド pADT 4 (23.8 kb) をえている。この DNA 断片 (13.8 kb) の種々の領域を pOA154 にサブクローニングした多数の組換えプラスミドによる変異株の相補性試験及び *E. coli* における形質発現実験によって、変異株 S D 141, S D 245 及び S M 196 を相補する遺伝子、それぞれ *strB*, *strC* 及び *strR* さらに streptomycin 6-phosphotransferase の構造遺伝子 *strA* が 13.8 kb 内にクラスターを形成して存在し、しかもその配列順序が *strR-strA-strB-strC* であることを見出している。特に *strA* 及び *strB* の発現に必須な正の調節遺伝子 *strR* の発見は抗生物質生産菌の分子育種上、重要であり、*strR* を含む領域をクローニングした組換えプラスミドは野生株 *S. griseus* ATCC 10137 のストレプトマイシン生産能を 5~7 倍上昇させている。

以上の成果は、ストレプトマイシン生産菌の分子育種に関し多くの基礎的知見を与えるにとどまらず他の抗生物質の生産並びに育種上、示唆に富む成果であって生物化学工学の発展に貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。