The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Research on γ-butyrolactone autoregulator and its receptor in the genera of non-Streptomyces actinomycetes
Author(s)	崔, 善旭
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44938
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　崔（チェ）　善（スン）　旭（ウク）

博士の専攻分野の名称　博　士（工　学）

学　位　記　番　号　第　18676　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

工学研究科応用生物化学専攻

学　位　論　文　名　Research on γ-butyrolactone autoregulator and its receptor in the genera of non-*Streptomyces* actinomycetes
（Non-*Streptomyces*属放線菌におけるautoregulator制御系の探索）

論　文　審　査　委　員　（主査）
教　授　仁平　卓也

（副査）
教　授　福井　希一　教　授　原島　俊　教　授　小林　昭雄
教　授　室岡　義勝　教　授　卜部　格　教　授　大竹　久夫
教　授　関　達治　教　授　金谷　茂則　教　授　清水　浩

論　文　内　容　の　要　旨

本論文は、Non-*Streptomyces*属放線菌におけるautoregulator制御系についての研究結果をまとめたものであり、本論4章及び総括から構成されている。

第1章は、序論であり、生理活性物質である抗生物質とその生産に関わる制御系、特に*Streptomyces*属放線菌におけるγ-butyrolactone autoregulatorとそのリセプターを介した制御系について既に確立された知見を述べ、本研究を行うに至った経緯を詳しく述べている。

第2章では、non-*Streptomyces*属放線菌である*Kitasatospora setae*についてγ-butyrolactone autoregulator receptor遺伝子を同定している。まず現在まで同定されている*Streptomyces*属放線菌由来のautoregulator receptorの共通保存配列に基づいて作成したPCR primerを用いて*K. setae genome* DNAから102 bpの増幅断片を得ている。更に本PCR断片をprobeとするSouthern hybridizationなどにより、約7 kbの*Bam*HI断片を取得し、塩基配列を決定した結果、654 bpのautoregulator receptor遺伝子homolog（*ksbA*）を同定するに至っている。この*ksbA*の機能をin vivoで確認するため*ksbA*の破壊株を作成し、野生株と表現型を比較した結果、*ksbA*はbafilomycin B_1生産のnegative regulatorとして働くことを明らかにしている。

第3章では、接合伝達用vectorとしてpSET152を、又plasmid DNAの供与菌として大腸菌ET12567 (pUZ8002)をそれぞれ用いて*K. setae*の形質転換法として接合伝達法を初めて確立している。さらにpSET152が*K. setae*ゲノム中に組み込まれる際の標的配列である*attB* siteが、*K. setae* genome中には1つしか存在しないことを明らかにすると同時に、その塩基配列を決定している。

第4章では、*K. setae*以外のnon-*Streptomyces*属放線菌についてautoregulator制御系の存在を探索するため、製薬業界で非常に注目されている生理活性物質を生産する代表的な5菌株についてautoregulator及びreceptor proteinの存在を調べている。その結果、*Actinoplanes teichomyceticus*と*Amycolatopsis mediterranei*の2菌株にγ-butyrolactone autoregulatorとそのreceptor proteinの存在をそれぞれ確認し、non-*Streptomycesc*属放線菌にも*Streptomycesc*属放線菌と同様なautoregulator制御系が存在している事を明らかにしている。

論文審査の結果の要旨

本論文では、生理活性物質の生産菌として重要なNon-*Streptomyces*属放線菌に着目し、その生産制御機構、特にγ-butyrolactone autoregulator とそのリセプターを介する制御系について解析を行っている。Non-*Streptomyces*属放線菌における二次代謝制御機構については、ほとんど知見がなく、γ-butyrolactone autoregulator を介する制御系を解明することは、広く二次代謝制御系を理解する上で大変重要であると考えられる。

本論文の成果を要約すると次の通りである。

(1) *Kitasatospora setae*、*Actinoplanes teichomyceticus*、並びに*Amycolatopsis mediterranei*という代表的なNon-*Streptomyces* 属放線菌がγ-butyrolactone autoregulator とそのリセプタータンパク質を有することを明らかにしている。

(2) *Kitasatospora setae*より、γ-butyrolactone autoregulator リセプタータンパク質をコードする遺伝子を取得し、その塩基配列を決定後、解析を行っている。

(3) *Kitasatospora setae*に対する形質転換法として、接合伝達法が有効であることを初めて見いだし、諸条件を最適化すると同時に、*K. setae*ゲノム中の組み込み標的配列 *attB*配列を取得し、塩基配列を決定・解析している。

(4) 上記接合伝達法を用いて、*K. setae*中のリセプター遺伝子を破壊し、破壊株と野生株との表現型の比較解析を行い、本リセプターが*K. setae*による Bafilomycin 生産の負の制御因子であることを明らかにしている。

以上のように、本研究によって得られた成果は、Non-*Streptomyces* 属放線菌における生理活性物質生産制御機構を理解する上で重要な知見となっているだけでなく、広く原核生物における二次代謝制御の理解に寄与するところが大きい。また生理活性物質の工業生産性を向上するうえでの基礎的知見としても有用である。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。