

Title	Distribution of avenolide-type hormones among actinomycetes and their roles as communication signals
Author(s)	Nguyen, Bich Thao
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/70743
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

Abstract of Thesis

Name (NGUYEN BICH THAO)	
Title	Distribution of avenolide-type hormones among actinomycetes and their roles as communication signals (エバノライド型放線菌ホルモンの分布及びシグナル伝達物質としての役割)
Abstract of Thesis	
<p>Actinomycetes are well-known for the ability to produce a wide range of secondary metabolites, including many antibiotic, antifungal, antiparasitic or antitumor compounds. The production of secondary metabolites in actinomycetes is controlled by complicated mechanisms which have not been fully characterized. One of them is the control by small-molecule autoregulators, called <i>Streptomyces</i> hormones.</p> <p>In 2011, our laboratory identified a novel <i>Streptomyces</i> hormone named avenolide. The strain <i>Streptomyces avermitilis</i> uses avenolide to control the production of avermectin, an anthelmintic agent that is used to treat river blindness disease. Until recently, <i>S. avermitilis</i> was the only strain known to use avenolide to control secondary metabolite production. Therefore, whether avenolide-type <i>Streptomyces</i> hormones are commonly found in other actinomycetes has attracted my interest. In order to address this question, this study aimed to identify actinomycetes that produce avenolide-type hormones and investigate the roles of these compounds.</p> <p>To identify actinomycetes producing avenolide-type hormones, I used bioassay with <i>S. avermitilis</i> Δaco, a disruptant of essential avenolide biosynthesis gene, as indicator strain. Since avenolide is not synthesized, avermectin is not produced in this strain either. Ethyl acetate extracts from 51 actinomycetes strains were tested in the bioassay for the ability to restore avermectin production in the indicator strain (avenolide activity). Result showed that the extracts from 12 out of 51 strains (24%) had avenolide activity, indicating that these strains might produce avenolide-type hormones. Especially, <i>Streptomyces albus</i> J1074 has the highest avenolide activity of 1,000 units. Therefore, it is interesting to identify the compounds that are responsible for avenolide activity of <i>S. albus</i> J1074 and investigate the roles of these compounds.</p> <p>In the genome of <i>S. albus</i> J1074, one copy of avenolide biosynthesis gene homolog was identified. By gene disruption, I found that this gene is directly involved in the biosynthesis of 4 avenolide derivatives. These 4 derivatives are responsible for avenolide activity of <i>S. albus</i> J1074. When <i>S. albus</i> J1074 was co-cultivated with <i>S. avermitilis</i> Δaco, it was observed that avermectin production was restored in <i>S. avermitilis</i> Δaco, suggesting the roles of the 4 avenolide derivatives as communication signals between these two strains.</p> <p>In summary, It was first reported in this study that approximately 24% of actinomycetes might produce avenolide-type hormones. Further study on <i>S. albus</i> J1074 revealed that this strain produces 4 different avenolide derivatives. The role of these 4 compounds as signaling molecules in interspecies interaction was also proposed in this study, providing insights into the complex interaction between different actinomycetes species.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (NGUYEN BICH THAO)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 藤山 和仁
	副 査	教授 福崎 英一郎
	副 査	教授 渡邊 肇
	副 査	教授 紀ノ岡 正博
	副 査	教授 村中 俊哉
	副 査	教授 大政 健史
	副 査	教授 内山 進
	副 査	教授 永井 健治

論文審査の結果の要旨

代表的な土壌微生物である放線菌は、多種多彩な生理活性物質を二次代謝産物として生産する産業微生物である。この放線菌の二次代謝制御系を解明することは、有用化合物の効率的生産のみならず、新規天然物の発見や新奇生合成系の同定などに繋がるのが期待される。しかし、放線菌二次代謝の分子機構は、各種放線菌にて解明されつつあるが、その普遍性や相違性などに関する知見については、未だ集積段階にあり、放線菌の物質生産能力を最大限に活用する合理的な分子育種を阻んでいる。本論文は、代表的な放線菌である *Streptomyces* 属放線菌の二次代謝制御系について、二次代謝を誘導するシグナル物質の観点から解析し、二次代謝シグナル制御系の放線菌における分布を明示すると同時に、二次代謝シグナルを介した放線菌種間の化学コミュニケーションを提唱するものである。得られた知見を要約すると、以下の通りである。

- 1) 放線菌における代表的な二次代謝シグナル物質として、自己調節因子と称される放線菌ホルモンがある。まず、微量にしか生産されない放線菌ホルモンを検出するバイオアッセイ系を、放線菌ホルモンの生合成酵素変異株を用いて構築している。構築したバイオアッセイ系により、公的機関委託放線菌と研究室所有の植物内生放線菌が生産する放線菌ホルモンのタイプを調査し、 γ -ブチロラクトン型放線菌ホルモンまたはブテノライド型放線菌ホルモンを生産する放線菌を同定している。また、放線菌ホルモン活性を検討し、異なるタイプの放線菌ホルモンを同時に生産する放線菌を新たに発見している。これらの解析により、新型放線菌ホルモンであるブテノライド型放線菌ホルモンを有する放線菌が、放線菌全体の 24% も占めていることを明らかにしている。これらの知見は、放線菌における各種二次代謝シグナル系の分布を示すと同時に、新型放線菌ホルモンによる二次代謝制御系が 1 種の放線菌だけではなく、広範囲の放線菌に存在することを示唆している。
- 2) 1) の解析にて、放線菌 *Streptomyces albus* J1074 には、新型放線菌ホルモンが調節する二次代謝制御系が存在することが示唆されている。同菌株にて、放線菌ホルモン生合成酵素と推定される遺伝子を破壊し、二次代謝産物またはブテノライド型放線菌ホルモンの生産に与える影響を調べている。次に、放線菌ホルモン生合成酵素破壊株にて、生産消失した代謝物の構造を同定し、その構造がブテノライド型放線菌ホルモンの類似していることを明らかにしている。同定化合物の二次代謝誘導活性を検討することにより、ブテノライド型放線菌ホルモンの構造活性相関を解明している。共培養解析により、*S. albus* J1074 が生産するブテノライド型放線菌ホルモンが培地中を拡散することにより、他種放線菌の二次代謝を誘導することを明らかにしている。これらの成果に基づき、ブテノライド型放線菌ホルモンを介した放線菌間化学コミュニケーションを呈示している。

以上のように、本論文では、二次代謝能力に優れた微生物である放線菌を対象にし、放線菌二次代謝シグナル生合成酵素変異株を用いたバイオアッセイ系を活用することにより、二次代謝シグナル制御系の分布を詳細に解明している。また、新型放線菌ホルモンであるブテノライド型放線菌ホルモンが 1 種の放線菌だけではなく、複数種の放線菌にて機能することを明らかにすると同時に、放線菌ホルモンが放線菌種間の化学コミュニケーションを司るシグナルとして機能することも見出している。本研究で得られた成果は、二次代謝シグナル物質が放線菌に普遍的に分布するのを示唆するとともに、微生物間相互作用の新たな概念を呈示するものであり、放線菌の二次代謝制御に関する研究のみならず、微生物における二次代謝産物の真の意義を解明する糸口を示していると考えられる。したがって、以上の成果は、当該分野の研究を大きく進展させ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。