OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マルチオミクス解析によるStreptomyces coelicolorにおける抗生物質生産へのcAMPの影響に関する研究
Author(s)	新田, 克章
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/85280
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　新田　克章　）	
論文題名	マルチオミクス解析による*Streptomyces coelicolor*における抗生物質生産へのcAMPの影響に関する研究

論文内容の要旨

第一章　緒論

放線菌は抗生物質の主要な生産源であるが，放線菌における抗生物質合成を担う代謝は放線菌の有する複雑な制御機構によって支配されている．従って新規抗生物質の発見ひいては発見された抗生物質の工業的生産を見越した生産性向上のためには，抗生物質生産を支配する複雑な制御機構の更なる解明が求められる．放線菌に属する*Streptomyces*属の中でも*Streptomyces coelicolor*は色を呈する抗生物質を産生することから，抗生物質生産に関連する制御機構の解明のためのモデル放線菌として，学術的に有用な研究対象とされてきた．2002年に*S. coelicolor*の全ゲノム配列が決定されて以来，*S. coelicolor*においてもオミクス解析が抗生物質生産に関連する制御機構の更なる解明のための手法として採用されている．本研究ではメタボローム解析およびトランスクリプトーム解析によるマルチオミクス解析を採用することで，*S. coelicolor*における抗生物質生産に資する知見の獲得およびその作用機序の解明を目指した．

第二章　抗生物質生産能の異なる放線菌*Streptomyces coelicolor*のマルチオミクス解析

*S. coelicolor*は対数増殖期において菌体合成を行い，培地中の基質が枯渇した増殖定常期において抗生物質の生産を開始する．*S. coelicolor*の各増殖期における代謝物の絶対定量および遺伝子発現解析を行ったところ，解糖系やTCA回路などを含む中央代謝に属する代謝物量の減少が主な代謝物量変化であることが示され，遺伝子発現の変化も同様の結果を示した．本結果から，増殖後期は抗生物質合成のための前駆体である中央代謝産物量の確保の面から適切ではないことが示され，前駆体がより多く確保されている早期の培養段階において抗生物質生産を開始させることが，培養後期における最終的な抗生物質生産量の向上に寄与する可能性が示された．そこで生合成遺伝子導入および*rpoB*遺伝子への部分変異導入によって，*S. coelicolor*における抗生物質生産能の強化を行った株の解析を試みた．結果的に培地中の基質が十分量存在している培養早期において抗生物質の生産が開始されると同時に，培養後期における最終生産量の向上が達成された．上記で構築した株に対してマルチオミクス解析を適用した結果，cAMP(環状アデノシン一リン酸)量が抗生物質生産量と相関関係にあることが示され，抗生物質生産におけるcAMPの重要性が示唆された．

第三章　放線菌*Streptomyces coelicolor*におけるcAMP添加のマルチオミクス解析

cAMPの*S. coelicolor*における抗生物質生産への重要性を示すため，cAMPを*S. coelicolor*の培養培地への添加実験を行った結果として菌体量，抗生物質ActinorhodinおよびGermicidinの生産量の向上を達成した．本知見の作用機序を解明するため，cAMPを培養培地に添加した際のマルチオミクス解析を行った．結果として，cAMP添加試料においてプリン塩基量の増大およびプリン塩基の合成関連遺伝子の発現レベルの向上が観測された．またサルベージ回路関連遺伝子の発現レベルの向上およびGMP（グアノシン一リン酸)量の向上から，プリン塩基の中でもグアニンに関連する代謝経路がcAMP添加による正の制御に寄与しているという仮説を提唱した．そこでグアニンに関連する反応に対して競合阻害を示す7-メチルグアニンを添加することで，グアニン関連反応を阻害することを試みた．結果として7-メチルグアニンの添加によって菌体合成およびActinorhodinの生産量が有意に阻害された．また同時にcAMPを7-メチルグアニン添加試料に添加した際に，阻害効果が軽減されなかったことから，7-メチルグアニンによって阻害される反応はcAMPによる制御の下流に存在しており，cAMPによる正の制御において重要であることが示された．

第四章　総括と展望

本研究では，マルチオミクス解析を*S. coelicolor*に適用することで，抗生物質生産に寄与する代謝物の特定およびその作用機序の部分的な解明を行った研究である．メタボローム解析によって，抗生物質の生産量がcAMP量と相関関係にあることが示され，cAMPの培養培地への添加によって抗生物質の生産性向上が観測された．cAMPを添加した際のマルチオミクス解析ならびに阻害剤の添加実験により，7-メチルグアニンによって阻害される反応がcAMPの正の制御の下流に存在していることが示された．本結果より*S. coelicolor*における抗生物質生産に関連する制御機構の更なる解明を達成された．本研究はマルチオミクス解析の*S. coelicolor*への適用を行う研究において端緒を開くことが期待され，今後の展望として，*S. coelicolor*における抗生物質生産に関連した制御機構の更なる解明が期待される．

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（　新田　克章　）

	(職)	氏　名
論文審査担当者	主査　教授	福崎　英一郎
	副査　教授	清水　浩
	副査　教授	本田　孝祐
	副査　教授	渡邊　肇
	副査　教授	栗栖　源嗣
	副査　教授	内山　進
	副査　教授	村中　俊哉
	副査　教授	紀ノ岡　正博
	副査　教授	藤山　和仁
	副査　教授	大政　健史
	副査　教授	永井　健治

論文審査の結果の要旨

放線菌は抗生物質の重要な生産源である．放線菌における抗生物質合成を担う代謝の誘導の程度は放線菌の有する複雑な制御機構によって支配されている．このため，放線菌のゲノム中に各種抗生物質の合成遺伝子クラスターが存在するにも関わらず，多くの抗生物質は通常の培養条件下では合成されず，ゲノム中で休眠していると表現される．従って，新規抗生物質の発見ひいては発見された抗生物質の工業的生産を見越した生産性向上のためには，抗生物質生産を支配する複雑な制御機構の更なる解明が求められている．本博士論文では，放線菌の中でもモデル放線菌である *Streptomyces coelicolor* を対象菌株とし，第一章では代謝物網羅解析および遺伝子発現網羅解析を用いたマルチオミクス解析によって，抗生物質生産を支配する制御機構の解明に資する知見の獲得およびその作用機序の解明を目的としている．第二章では，抗生物質を生産しない培養期ならびに抗生物質を生産する培養期それぞれにおいてマルチオミクス解析を適用することで代謝物の絶対量および遺伝子発現の変化を特定することで，培養早期における抗生物質生産が最終的な生産量向上に寄与していることが示され，本仮説を生合成遺伝子導入ならびにリボソーム工学を用いることで立証している．ここで，構築された抗生物質生産能を強化した株に対してマルチオミクス解析を適用することで，cAMP(環状アデノシン一リン酸)が抗生物質の生産時期ならびに最終生産量と相関関係にあることを示し，cAMP の抗生物質生産における重要性を示唆している．第三章では，第二章で得られた仮説を立証するため cAMP を培養培地に添加した際の *Streptomyces coelicolor* の表現型の変化を観測している．結果的に cAMP 添加によって，菌体量の向上ならびに各種抗生物質生産量の向上が達成され，cAMP の抗生物質生産における重要性を立証している．ここで cAMP を添加した際のマルチオミクス解析を行うことで，プリン塩基であるグアニン量の増大およびグアニン関連反応の重要性が示唆している．ここで，グアニン関連反応の阻害剤である 7-メチルグアニンの阻害剤を cAMP と共に培養培地に対して添加することで，cAMP によって 7-メチルグアニンによる阻害効果が軽減されなかったことから，7-メチルグアニンによって阻害される反応は cAMP の正の作用の下流に存在していることが示され，cAMP の作用機序において重要であることを示している．第四章では，本論文の総括を述べると共に，当該分野の今後における展望について議論を述べている．

以上のように、本論文はマルチオミクス解析を採用することで，*Streptomyces coelicolor* における抗生物質生産制御機構の更なる解明を達成している．よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。