



研究ノート

放線菌の信号伝達物質

山田 靖 宙*

はじめに

放線菌は数多くの抗生物質を始めとする生理活性二次代謝物質を生産する醗酵工業上重要な微生物である。又、森林、原野で地面を掘ると感じる土壌の香りは主として放線菌の代謝産物によるもので、これらの土壌細菌は自然環境面でも重要な働きをしている。放線菌は分類上では細胞中に核のない原核生物であり、微生物の中でも核を持つ真核生物のカビや酵母に比べると下等な細菌の仲間である。しかし、その生態は複雑であり、固体培養をすると基底菌糸、気菌糸、孢子形成等の分化をするユニークな生物である。放線菌の中で、*Streptomyces* 属には、その分化、二次代謝物質生産を制御する信号伝達物質（自己調節因子とも呼ばれる）が存在する。これらの物質は高等生物のホルモンの様にある細胞から極微量分泌され、他の細胞の二次代謝物質の生産や分化を誘導すると考えられている。*Streptomyces* 属の生産する既知の信号伝達物質を図1に示した。1970年代に構造決定された *St. griseus* の streptomycin 生産と分化を誘導する A-factor¹⁾ 6, *St. griseus* の anthracyclin 生産と分化を誘導する factor I7²⁾, Gräfe factor 1, 8, 9³⁾ 等、いずれも γ -lactone 環の2位に1'-oxo 又は1'-hydroxyalkyl側鎖と3位にhydroxymethyl基の置換した共通の骨格を持つコンパクトで特色のある構造である。Virginiae butanolide (VB) と我々が命名した VB-A1 から VB-E5 の5種の物質は我々が抗生物質 virginiamycin 生産誘導因子として *Streptomyces virginiae* から分離、構造決定したものである⁴⁾。いずれも1トンの培養液中に100mg程

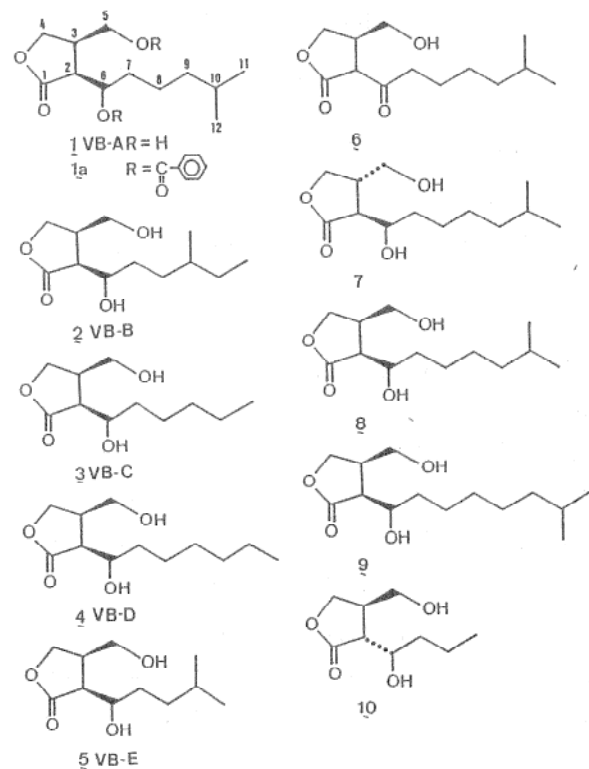


図1

度しか存在せず、分離精製するとせいぜい1mg程度の収率である。しかし、その生理活性は非常に強く、1ng/ml程度の濃度で活性を示す。さて、この様に微量の天然物の分離精製、構造決定には精製のためのHPLC (High Performance Liquid Chromatography), 構造解析のための高分解能NMR, 構造確認のための化学合成技術が必要である。我々の研究にも昨年本学工学部に導入された600MHz NMR装置 (Bruker) が非常に役立った。本誌面を借りて導入に努力して下さった関係者各位、装置の保守に日夜心を砕いておられる分析センターの方々に心より感謝します。本稿では以下600MHz NMR装置のおかげで早く進行した2種の研究成果に付いてのべたい。

*山田靖宙 (Yasuhiro YAMADA), 大阪大学工学部, 醗酵工学科, 教授, 農学博士, 醸造工学

1. *Streptomyces* FRI-5の生産する青色色素生産誘導因子 (IM-2) の構造⁵⁾

St. FRI-5 株は抗生物質 cycloserine を生産するが特定の培養条件では青色色素を生産し⁶⁾ 抗生物質の生産パターンも異なってくる。色素生産条件下での培養液1150l の iso-butanol 抽出物715gより分配抽出2回, 活性炭カラム2回, 逆相 column chromatography 2回, 種々の条件下の HPLC を5回繰り返し HPLC でシングルピークを示す青色色素生産誘導因子 (IM-2) 580 μ gを得た。活性は粗抽出物の 1.7×10^5 倍まで精製された。IM-2は0.6ng/mlの低濃度で青色色素生産を誘導した。精製過程はより良い手段を求めての試行錯誤と各分割の活性測定の繰り返しで約2年半の歳月を要した。この微量で貴重な物質IM-2の構造は前述の600MHz ¹HMRと新しい mass spectrometer のおかげで迅速に10の様に決定できた。この構造は幸いにも、我々がすでにVB類縁体として合成していた trans体⁷⁾と完全に一致したので立体構造の一部は合成的にも証明されたことになる。やはり *Streptomyces* 信号伝達物質特有の γ -lactone 骨格を持つが、置換基がtransの立体構造でalkyl 側鎖が短く、より親水性という特徴を示した。

2. VB-Aの生合成研究

これらの興味ある活性を示す信号伝達物質の生合成経路は我々にとって大変関心のある問題である。当初この生合成研究は非常に困難と考

えられた。何故はらばその生産量が非常に少ないため、前駆体を決定するためのアイソトープ取り込み実験が不可能と思われたからである。しかしVBタイプ活性物質の *Streptomyces* 属における分布を調べている内に、幸運にも *Streptomyces antibioticus* の一株が6lの培養液から精製後の収量2.3mgという比較的少量のVB-Aを生産し得ることを発見した⁸⁾。これで問題の一部は解決した。しかし高価な、あるいは苦勞して合成した¹³Cラベル前駆体を多量に取り込み実験に使用することは不可能であり、且つ取り込み実験用培養条件のせいもあって、ベンゾエート誘導体1aとして精製した¹³Cを取り込んだVB-Aの収量は微量であった。即ち、ベンゾエート誘導体の収量は酢酸の取り込み実験では1.88mgと1.87mg, パレリアン酸のそれでは0.33mg, [1, 3-¹³C]glycerol の場合は実に0.062mgという低収量であった。しかしここでも600MHz NMR装置はその威力を遺憾なく発揮し、VB-Aの¹³Cによるラベリングパターンを明確に割り出すことが出来た。この結果より推定されるVB-Aの生合成経路を図2に示した。この推定生合成経路を実証するためにはさらに進んだ前駆体の取り込み実験が必要であり、現在進行中である。

おわりに

我々の研究室ではこれらの信号伝達物質がどのようなメカニズムで機能しているのかという問題を追及している。TritiumでラベルしたVB

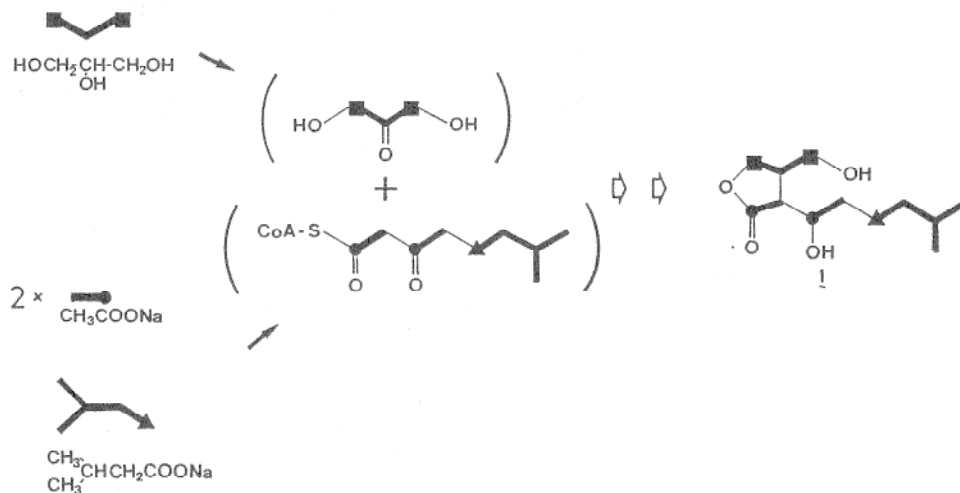


図 2

-Cを合成し、この分子と特異的に結合するタンパク質を*Streptomyces virginiae*の菌体中から検索した所、その存在を確認することができた⁹⁾。現在そのタンパク質を精製中であるが、これも非常に微量である上不安定なので難渋している。

微生物の二次代謝物質生産の制御機構、分化のメカニズムは数多くの遺伝子がかからみ、大変複雑で一筋縄では解決できない。その一部でも解明出来ることを夢見て研究を進めている。

参 考 文 献

- 1) E.M. Kleiner, S.A. Pliner, V.S. Soifer, V.V. Onoprienko, T.A. Balashova, B.V. Rosynov, A.S. Khokhlov, *Bioorg. Khim.*, 2, 1142 (1976).
- 2) U. Gräfe, W. Schade, I. Eritt, W.F. Fleck, L. Radics, *J. Antibiotics*, 35, 1722 (1982).
- 3) U. Gräfe, G. Reinhardt, W. Schade, I. Eritt, W.F. Fleck, L. Radics, *Biotechnol. Lett.*, 5, 591 (1983).
- 4) a) Y. Yamada, K. Sugamura, M. Yanagimoto, H. Okada, *J. Antibiotics*, 40, 496 (1987).
b) K. Kondo, Y. Higuchi, S. Sakuda, T. Nihira, Y. Yamada, *J. Antibiotics*, 投稿中.
- 5) K. Sato, T. Nihira, S. Sakuda, M. Yanagimoto, Y. Yamada, *J. Ferment. Bioengi.*, 68, 170, (1989).
- 6) M. Yanagimoto, T. Enatsu, *J. Ferment. Technol.*, 61, 545 (1983).
- 7) T. Nihira, Y. Shimizu, H.S. Kim, Y. Yamada, *J. Antibiotics*, 41, 1828 (1988).
- 8) H. Ohashi, Y. Zheng, T. Nihira, Y. Yamada, *J. Antibiotics*, 42, 1191 (1989).
- 9) H.S. Kim, T. Nihira, H. Tada, M. Yanagimoto, Y. Yamada, *J. Antibiotics*, 42, 769 (1989).

