

# 工学研究科応用生物学専攻 生物機能工学講座生物材料化学領域



研究室紹介

山田 靖 宙\*

## 1. はじめに

本研究室の歴史を少々述べさせていただくと、私が教授になった1985年当時は故田口久治名誉教授が当講座を主宰されており、講座名は醸酵工学科醸造工学講座であった。そのころ田口先生は手塩をかけて育て上げられた生物学国際交流センター長としてその運営に尽力されており、その主力はセンターに移動していたので、事実上、私が新しい研究室として主宰していくことになった。私の専門分野は生物有機化学、天然物有機化学なので、京大工業化学出身で当時センター助手、生化学分野の仁平卓也(現助教)と協力して発足した。醸酵工学科にとっては、新設分野であるため、武器としては新旧3台のHPLC装置と、出身講座である岡田研究室からの古い60Mz NMR, UV, IRのみが主力であった。そのころの研究テーマは糸状菌の新規二次代謝物質の構造、合成、生合成、テルペン類の微生物変換、新規酵素の探索、放線菌の抗生物質誘導因子の構造である。1986年から1994年まで天然物有機化学専門の作田庄平(現在東京大学助教授)が助手として加わり、微生物新規代謝物質の探索、生合成、構造決定の分野で大きな成果をあげてくれた。

1991年には醸酵工学科の改組拡充が行われ、

応用生物工学科8講座編成になり、醸造工学講座名は生物材料化学講座となった。さらに、1995年度からは大学院重点化実現により、改組され、現在は工学研究科応用生物学専攻生物機能工学講座に属する生物材料化学領域になっている。

現職員は山田靖宙教授、仁平卓也助教授、井原史雄助手、宮下里花事務官であり、学生は大学院13名、学部6名、ユネスコトレニングコース研修生1名(平成8年3月現在)の構成である。我々の研究室は天然物有機化学、生物有機化学をバックグラウンドとして研究を進めているが、工学部に属するバイオテクノロジー部門であることから、基礎を深く研究すると同時に、常にその応用を目指して努力している。研究室発足当時のテーマである *Streptomyces* 属放線菌の微生物ホルモン様信号伝達物質も、はじめはその分離精製、構造決定、化学合成からはいり、現在はその生合成、さらには、作用機構の解明のためにそのレセプタータンパク質の構造研究をおこなっている。将来は、有用二次代謝物質の増産、探索、微生物農薬開発等応用分野に役立てたいと考えている。

従って、当初は有機化学的色彩の強かった実験内容も、現在ではタンパク質化学、遺伝子組み替え技術を駆使したDNAレベルでの実験、成果が多くなっている。

次に、主な研究内容を紹介したい。

## 2. 研究内容

*Streptomyces* 属放線菌のホルモン様信号伝達物質

*Streptomyces* 属放線菌は土壤に広く分布する微生物であり、ストレプトマイシン、テトラサイクリンを始めとする多くの有用抗生物質、二

\* Yasuhiro YAMADA  
1937年3月12日生  
1960年東京大学農学部農芸化学科卒業  
現在、大阪大学大学院工学研究科  
応用生物学専攻、教授、農学博士、生物有機化学  
TEL 06-879-7431  
FAX 06-879-7448  
E-Mail yamada@mail.bio.  
eng.osaka-u.ac.jp



次代謝物質を生産する合成の天才で発酵工業、医薬品工業上極めて重要な生物である。ちなみに、暖かい季節に土を掘り返すと、独特の土壌の香りがするが、この臭気成分も主に放線菌の産物である。また、カビ等の糸状菌よりはより原始的な細胞中に核のない原核生物に属するが、基底菌糸、気菌糸、分生胞子を形成する形態分化をカビと同じ様に行う。さて、*Streptomyces* 属放線菌のこのような形態分化や、抗生物質生産を数 nM の極微量で誘導する内因性で低分子の微生物ホルモン様物質の存在が知られており、自己調節因子とも呼ばれている。我々の研究室では、*Streptomyces virginiae* から抗生物質 virginiamycin の生産を誘導する自己調節因子を分離、構造決定した。virginiae butanolide (VB) と命名したこの因子は 5 種の類縁体よりなる。2 位と 3 位が置換したブチロラクトン環を持つユニークな構造の一群の物質である。このようなユニークな骨格の生合成経路の研究と平行して、我々は世界に先駆けてこの微生物ホルモン様物質のレセプタータンパク質を分離し、その遺伝子をクローニングして、アミノ酸配列即ち一次構造を決定することが出来た。この研究の発想は、高等生物のホルモンと同様に、細胞外に分泌された低分子自己調節因子 VB が他の細胞に信号を伝達し、抗生物質遺伝子を発現させる過程で必ずレセプタータンパク質が関与しているという仮説に基づいている。現在このレセプタータンパク質の機能の解明が進行中である。

その他 VB 以外の自己調節因子としては D-cycloserine 生産放線菌、*Streptomyces* sp. FIR-5 において青色色素の生産と抗生物質をヌクレオシド型にスイッチする因子を分離、構造決定して IM-2 と命名した。IM-2 もブチロラクトン骨格を持つ VB 類縁体である。そのレセプタータンパク質の分離、遺伝子のクローニング、アミノ酸配列の決定も終了している。

我々以外のグループにより発見、構造決定された自己調節因子では *Streptomyces griseus* の A-factor がある。形態分化と抗生物質ストレプトマイシンを誘導する因子であり、VB, IM-2 と同様にブチロラクトン骨格を持つ類縁体であ

る。このレセプタータンパク質も最近東大のグループにより、分離、遺伝子のクローニング、アミノ酸配列の決定がおこなわれた。現在知られているこの 3 種類の自己調節因子 VB, IM-2, A-factor とそれぞれのレセプタータンパク質の結合はその効果同様、特異的である。

このようなブチロラクトン型の自己調節因子は約 60% の *Streptomyces* 属放線菌に分布していると推定され、それぞれの種における機能が基礎、応用の両面から我々の興味を引く対象である。VB を利用した抗生物質 virginiamycin の増産に関する研究は応用生物学専攻の塩谷、菅教授の下で進行中である。また、IM-2 とそれに対応する抗生物質生産菌の組み合わせによる植物病原菌の防除法も企業で成功している。ブチロラクトン型自己調節因子は比較的構造は簡単で実験室規模では容易な合成出来る上、数 nM の濃度で有効である。その他このような自己調節因子を利用した、放線菌の新機能開発が今後期待される。

#### リパーゼを利用した有機合成、新規リパーゼの開発

この 15 年来、多くの有機合成化学者達は、生体触媒、酵素等を有機合成に応用し、不斉合成、位置特異的反応、不安定物質の合成に成果を挙げつつある。我々は糸状菌のマクロライド (大環状ラクトン型抗生物質) の生合成研究から大環状ラクトン合成にリパーゼを応用することを発想し、市販の *Pseudomonas* 属起源のリパーゼにその活性があることを見出した。リパーゼを利用した大環状ラクトン合成は操作は純然たる化学反応よりは容易であるが、化学反応同様、分子間反応を防ぐために、高度希釈での反応が必要である。酵素を改良すべく、大環状ラクトン合成能を持つリパーゼの精製、その遺伝子のクローニング、一次構造の決定を行い、大腸菌での大量発現を試みた。リパーゼは本来細胞膜を加水分解し、破壊する性質があり、大腸菌での生産もタンパク質は大量に取れるが失活状態であった。このリパーゼ遺伝子の下流にリパーゼの活性化に関与するタンパク質遺伝子を見出し、現在タンパク質化学的に、失活したタンパク質の賦活化の研究を行っている。

これ以外にも、有機合成に利用可能な市販のリパーゼにはない新機能を持つリパーゼを土壌細菌から探索し、その精製、性質の検討が進行中である。

### 3. お わ り に

我々の研究室では、微量物質の精製、構造決定、合成、生合成、レセプタータンパク質、酵素の精製、クローニング、DNA構造解析、その発現条件検討等全て自身で手がけ小回りの効く状態で行ってきたため、比較的ユニークな研究が出来たと考えている。しかし、スタッフの人数が限定されつつある昨今、今後は他グルー

プとの協力や、ポストドク制度の普及完備が待たれる。最近、バイオ領域の若い研究者にCDP症候群と呼ばれる傾向があり、問題になっているそうである。遺伝子のクローニングのC、DNAのシーケンスのD、研究発表パブリケーションのPで、CDPは大変大事な研究上のプロセスであるが、そのことのみを考え、視野が狭く、広い対局観と夢に欠ける症状がCDP症候群らしい。学生には手段の多様性を利用して、他人の研究内容に関心を持つことを薦めている。バイオテクノロジー分野では多様な手段を駆使する事が必要な場合が多い。好奇心が旺盛で活力のある学生を育てることが必要である。

