

抗生物質生産微生物における潜在代謝能力の活性化



研究ノート

木谷 茂*

Activation of cryptic antibiotic production in actinomycetes

Key Words : Actinomycetes, antibiotics, cryptic secondary metabolism

はじめに

“抗生物質”と聞かれて、何を連想されるだろうか。私たちが病気になり、処方されるお薬の1つであるとか、昨今のニュースとして取り上げられる「抗生物質に耐性を持つ細菌」などを想像される方がおられると思う。抗生物質は、微生物が生産し、かつ他の微生物の生育を阻害する化合物として、一般的に定義される。しかし、広義には、微生物由来の化合物を化学修飾した物質や、微生物だけではなく他の細胞の生理機能を阻害する物質も含まれる。ご存知の方も多い抗菌薬ペニシリンは、世界初の抗生物質である。ペニシリンは、イギリスのフレミング博士により、1928年に偶然に発見された抗生物質であり、このペニシリンの発見が、第二次世界大戦における多数の戦傷者を救ったことは有名である。一方、抗寄生虫薬エバーメクチンをご記憶されているだろうか。エバーメクチンは熱帯病オンコセルカ症を治療する特効薬の原料であり、大村博士（北里大学特別栄誉教授）により発見された抗生物質である。大村博士が感染症治療薬の開発に貢献したとして、ノーベル生理学・医学賞を2015年に受賞されたことは記憶に新しい。このように、抗生物質は私たちの生活を支えてきた有用な化合物であることは紛れもない事実である。

抗生物質を生産する産業微生物として、土壌微生物

物として知られる「放線菌」がある（図1A）。放線菌はカビに似た複雑な形態分化を示し、大腸菌と同じ原核生物に属する。微生物由来の生理活性物質（抗生物質を含む）は33,000種を越えるが、その4割以上の13,700種が放線菌を起源とする¹⁾。抗生物質の医薬資源としての有用性から、放線菌は創薬リードを創出する産業微生物としての地位を確固として築いてきた。また、近年の遺伝子工学の発達により、抗生物質の生合成や生産制御などの分子メカニズムが解明され、医薬リード化合物を新たに産み出す技術が開発されつつある。本稿では、筆者が取り組んできた放線菌における抗生物質生産制御メカニズムを解説し、新規抗生物質の探索法に繋がる潜在代謝能力の活性化について紹介する。

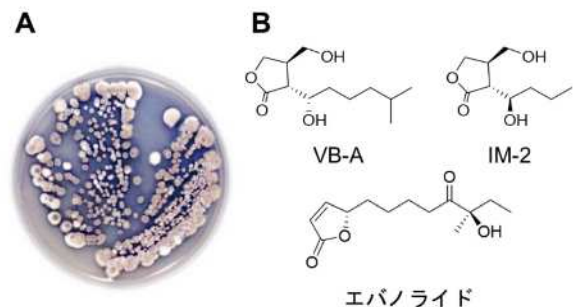


図1 放線菌の二次代謝を誘導する放線菌ホルモン

A エバーメクチン生産放線菌の写真
B 放線菌ホルモンの化学構造



* Shigeru KITANI

1973年12月生まれ
大阪大学大学院工学研究科応用生物工学
専攻博士後期課程（2001年）
現在、大阪大学生物工学国際交流センタ
ー 准教授 博士(工学)
応用微生物学
TEL : 06-6879-7455
FAX : 06-6879-7454
E-mail : kitani@icb.osaka-u.ac.jp

低分子シグナルによる抗生物質生産の制御メカニズム

エバーメクチンや抗結核薬ストレプトマイシンなどの抗生物質は、放線菌の二次代謝産物として生産される。この二次代謝産物とは、微生物を含む生物の生育には必ずしも必要ではない物質の総称であり、生育に必須な化合物は一次代謝産物と呼ばれる。二次代謝産物の生産を制御する、つまり二次代謝をコントロールする仕組みとして、放線菌には様々な分

子経路があるが、それらは培養環境に依存して、複雑に絡み合っている。筆者が注目する二次代謝経路は、放線菌ホルモンによる制御系である。放線菌ホルモンは、微生物ホルモンの一種であり、放線菌の二次代謝を nM オーダーで誘導する低分子シグナル物質である (図 1B)。微生物ホルモンは、生産微生物以外の異種微生物に影響を与えず、自身の細胞の生理作用を極微量にて誘導する化合物を指す。筆者の研究室では、抗菌薬バジニアマイシンを生産誘導する放線菌ホルモンとしてバジニアブタノライド (VB) を、また青色色素インジゴイジンの生産を誘導する因子として IM-2 を同定した。また、遺伝学的基準放線菌よりも、2種の抗生物質の生産に関わる放線菌ホルモンを単離している。しかし、これらの放線菌ホルモンは極低濃度で有効であるだけに、実質の生産量は極めて少なく、単離とその構造決定は困難である。したがって、放線菌ホルモンを同定した研究グループは数少ない。これらの放線菌ホルモンは、 γ -ブチロラクトン環を含む β -ヒドロキシメチルブタノライドを共通骨格として持つため、 γ -ブチロラクトン型放線菌ホルモンと呼ばれる。一方、エバノメクチン生産菌の放線菌ホルモン (エバノライドと命名した) を同定したところ、このエバノライドにはブテノライド環が含まれていた²⁾ (図 1B)。また、ブテノライド型放線菌ホルモンは他の放線菌からも同定されたことから、同型の放線菌ホルモンは γ -ブチロラクトン型ホルモンに続く、第二の放線菌ホルモンであると考えられ、各種工業放線菌における放線菌ホルモンの種類に興味を持たれる。

放線菌ホルモンによる抗生物質生産の制御機構を概説すると、放線菌ホルモンが受容体タンパク質に認識されることが重要である³⁾ (図 2)。この放線菌ホルモン受容体は、DNA に結合する転写制御因子としても機能する。放線菌ホルモンが生産されていない培養時期では、放線菌ホルモン受容体は標的遺伝子のプロモーター DNA 領域に結合し、RNA ポリメラーゼの結合を阻止する。これにより、標的遺伝子の転写抑制状態が維持される。放線菌ホルモンが生産される時期では、放線菌ホルモンが結合した受容体は DNA 結合能を失い、標的プロモーター DNA 領域から解離する。この複合体解離により、RNA ポリメラーゼのプロモーター領域への結合が可能と

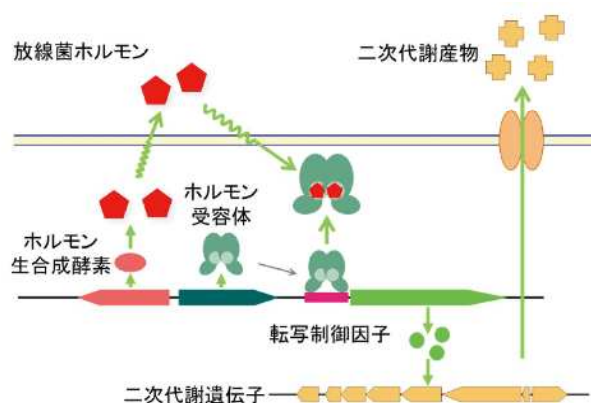


図2 放線菌ホルモンによる抗生物質の生産制御機構

なり、標的遺伝子の転写が活性化される。この転写活性化ステップを起点にして、抗生物質の生産制御遺伝子やその生合成遺伝子の転写が誘導され、抗生物質の生産が開始する。多くの放線菌ホルモン制御系では、ホルモン受容体を受容体遺伝子近傍に位置する制御遺伝子の発現を巧妙に調節することにより、抗生物質の生産を多層的にコントロールしている。このような複雑な二次代謝制御系を丹念に解明していくことが、抗生物質の生産を増強する分子育種を可能にすると考えられる。

潜在代謝能力の活性化による抗生物質の新規発見

次世代シーケンサーは大量の DNA 塩基配列を短時間にて解析するが、その解析能力は近年、顕著に向上している。その結果、放線菌の遺伝子情報を簡単かつ低価格にて得ることが可能となった。放線菌のゲノム DNA サイズは、抗生物質などの二次代謝産物をあまり生産しない大腸菌の約 2 倍程度の大きさを示すことから、放線菌の遺伝子情報に興味を持たれた。様々なプログラム解析の結果、放線菌のゲノム DNA には、二次代謝産物の生合成遺伝子群が 30 以上も 1 菌株あたりに配置されており、予想していたよりも遙かに多数の二次代謝産物を生産する可能性が示唆された。しかし、これらの遺伝子群の約 9 割が通常条件下では機能しておらず、放線菌の希有な代謝能力が潜在化 (休眠) している状態にある。この放線菌の潜在代謝能力を活性化できれば、放線菌種を新たに獲得せずとも、新たな抗生物質を効率的に発見できると期待されている。現在、世界中の研究者が、このようなコンセプトに基づき、放線菌の潜在代謝能力を活性化させる技術の開発を目

指している。

筆者は、放線菌ホルモン受容体が研究対象以外の二次代謝産物を生産制御する可能性を疑い、各種放線菌ホルモン受容体破壊株の代謝物を解析した結果、二つの休眠物質を見出した。一つは、 β -カルボリン構造を主骨格とする新規物質（キタセタリンと命名した）であり、もう一つはポリケタイド骨格を有するフトキサゾリンAであった^{4,5)} (図3)。両化合物とも野生型株では、その生産を検出することが難しい状態にあった。 β -カルボリン化合物は、抗ガン活性などの多彩な生理活性を示す有用物質であるが、微生物由来の β -カルボリン化合物は極僅かである。そこで、キタセタリン生合成系の合成酵素群を解析した結果、従来とは異なる β -カルボリン生合成系を見出した⁶⁾。次に、この合成酵素群を活用したところ、生理活性が増強された、または新たな生理活性が付与された非天然型の β -カルボリン化合物を創製することに成功した^{7, 8)}。一方、エバメクチン生産菌から見出したセルロース合成阻害剤フトキサゾリンAは、残念ながら、既知物質であったが、その生合成系が明らかではなかった。そこで、フトキサゾリンAの生合成機構を解析した結果、生物工学的に興味深い合成酵素群を同定すると共に、エバメクチン生産菌の育種過程を示す貴重なゲノム情報を獲得した⁹⁾。また、筆者は、休眠二次代謝遺伝子群を異種放線菌にて強制的に発現させた場合

にも、新規物質（ラベンジオールと命名した）を得た¹⁰⁾ (図3B)。この新規物質の生合成系を活用すると、既知抗生物質の構造を改変でき、新たな生理活性を示す抗生物質を創出できると考えている。筆者が示した、この三つの事例のように、放線菌の潜在代謝能力を各種方法にて活性化すれば、想定できない抗生物質やその合成酵素を獲得できると期待される。

おわりに

抗生物質が上市されると、その耐性細菌が数年後に発見される。この耐性細菌に対抗するため、また新たな抗生物質が開発されるという「いたちごっこ」が続いている。この不毛な連鎖を断ち切る必要があるが、抗生物質の有用性は言うまでもない。放線菌や微生物の潜在代謝能力をフル活用し、各種化合物を発見すれば、このいたちごっこを終了させる新たな方策が開発されることが期待される。

参考文献

- 1) Berdy J. *J Antibiot (Tokyo)*. 65:385-395. 2012.
- 2) Kitani S, *et al.* *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108:16410-16415. 2011.
- 3) Kitani S. *Actinomycetologica*. 29:10-17. 2015.
- 4) Aroonsri A, Kitani S, Ikeda H, Nihira T. *J Biosci Bioeng*. 114: 56-58. 2012.
- 5) Suroto DA, *et al.* *J Biosci Bioeng*. 124:611-617. 2017.
- 6) Aroonsri A, *et al.* *Appl Environ Microbiol*. 78:8015-8024. 2012.
- 7) Ueda S, *et al.* *J Antibiot (Tokyo)*. 71:854-861. 2018.
- 8) Ueda S, *et al.* *J Ind Microbiol Biotechnol*. 46:739-750. 2019.
- 9) Suroto DA, Kitani S, Arai M, Ikeda H, Nihira T. *PLoS One*. 13(1):e0190973. 2018.
- 10) Pait IGU, *et al.* *J Ind Microbiol Biotechnol*. 45:77-87. 2018.

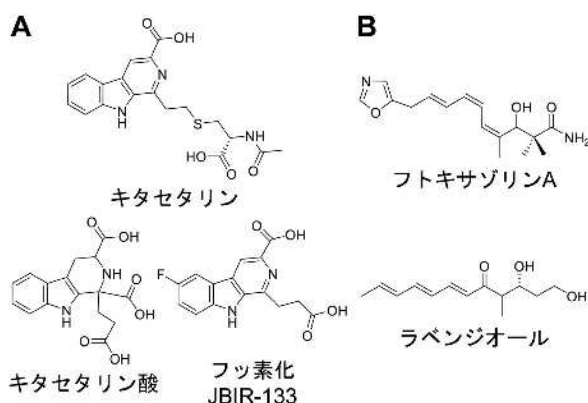


図3 放線菌潜在代謝能力の活性化により産み出された抗生物質