

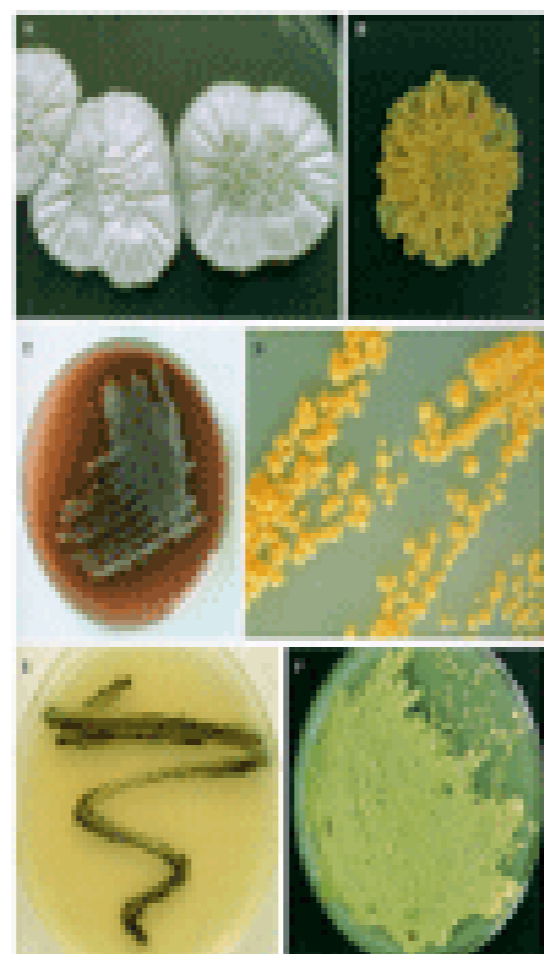
微生物の有用物質生産能力を高める省力的かつ効果的な育種

大学院自然科学研究科・バイオサイエンス専攻
微生物遺伝子化学研究室 准教授 田村 隆

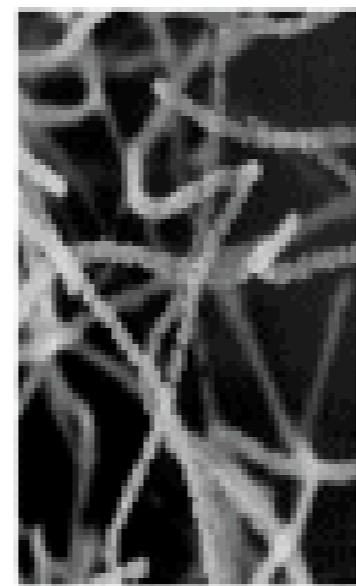
放線菌は主に土壤中に生息する原核微生物で、細胞の構造や大きさは細菌であるが、糸状菌（かび）のように放射状に菌糸が生育し、その先端に様々な形の胞子を形成する。抗生物質生産菌の大部分が放線菌に属し、特にストレプトマイセス属（*Streptomyces*、ストレプトマイシンの名の由来）に多い。放線菌の培養液から見つかったストレプトマイシンは結核の化学療法剤として広く用いられた。この発見を契機として、今日までに放線菌から数多くの抗生物質や医薬的に重要な二次代謝産物が発見された。これまでに発見された微生物由来の有用な代謝産物の約7割が放線菌から発見されている。放線菌が生産する抗生物質・生理活性物質は医薬品だけでなく、農薬、動物薬、酵素阻害剤など多岐にわたっており、産業的にも魅力的な微生物群である。しかし、微生物の抗生物質生産量は本来、極微量である。そこでUV照射により変異変異を導入後、薬剤耐性を指標とする簡便な選抜より高生産株を取得する方法を検討した。本研究室ではヌクレオシド系抗生物質に着目して、*Streptomyces incarnatus*（シネフンギン生産菌）、と*S. calvus*（ヌクレオシジン生産菌）を対象として抗生物質生産の飛躍的向上を試みた。

放線菌とは??

主に土壤中に生息する原核微生物で、細胞の構造や大きさは細菌類と似ているが、糸状菌（かび）のように放射状に菌糸が生育しその先端に様々な形の胞子を形成する。生態系においては、落葉などの有機物の分解や物質循環に関わる分解者として大きな役割を果たしている。



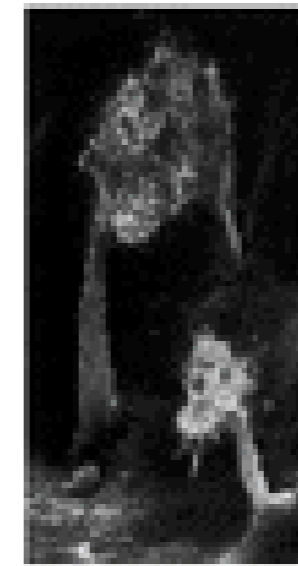
放線菌のコロニー



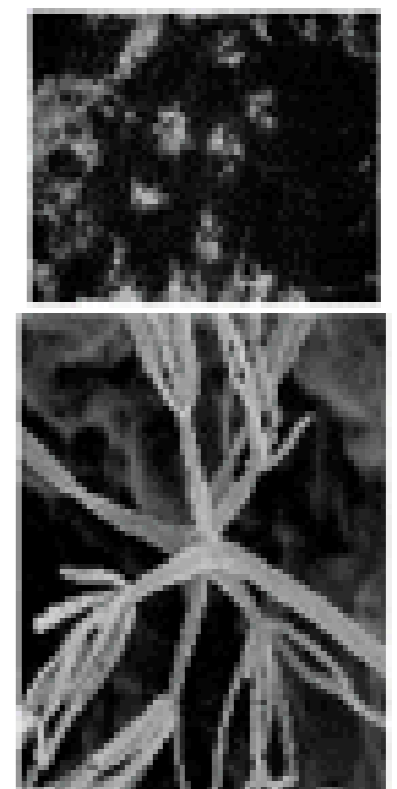
Streptomyces griseus



Herbidospora cretacea



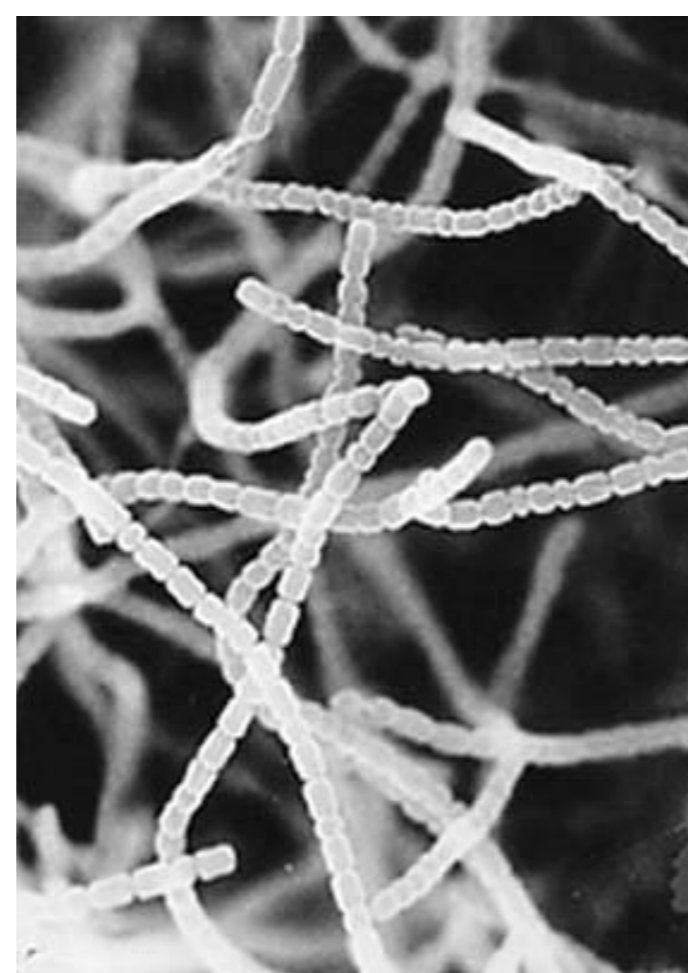
Actinosynnema mirum



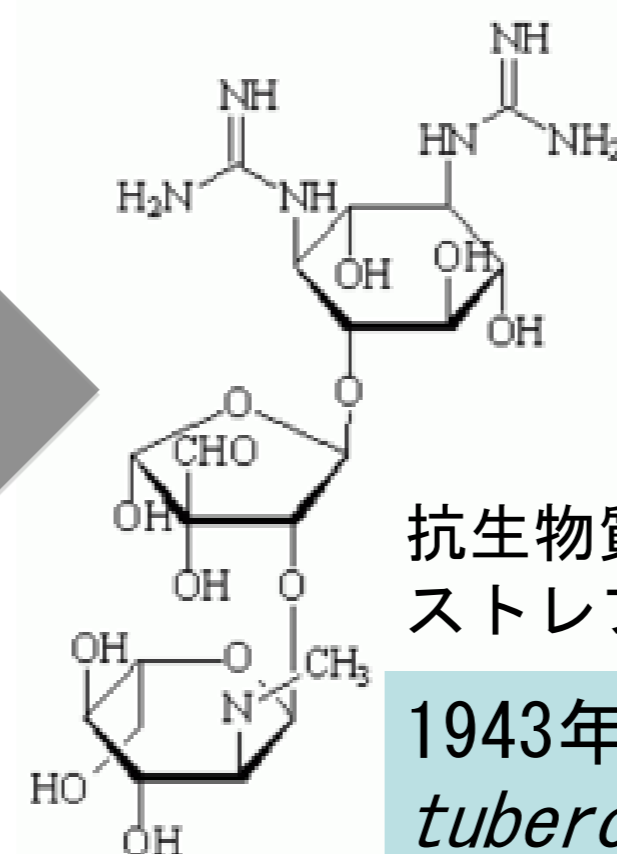
Streptomyces verticillius

放線菌の魅力／様々な抗生物質をつくる！

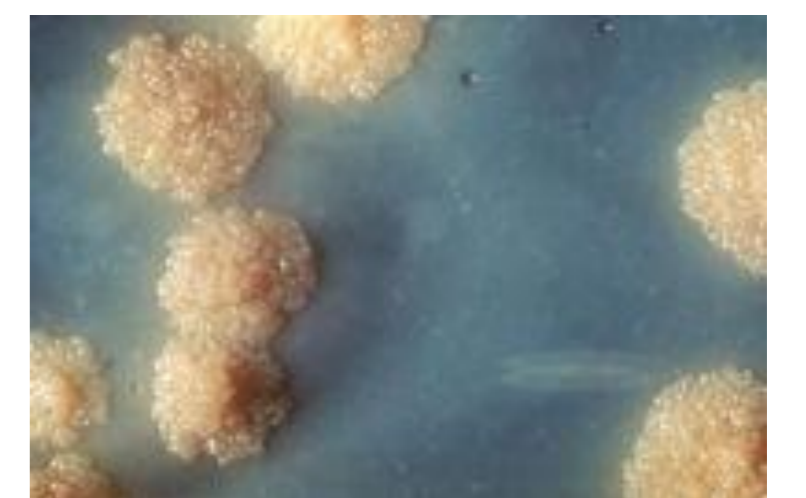
ストレプトマイシンは結核の化学療法剤として広く用いられてきた。この発見をきっかけにして、今日までに放線菌から数多くの抗生物質や工業的に重要な二次代謝産物が発見された。実用化された主な抗生物質にはバンコマイシン〔抗MRSA〕、ストレプトマイシン〔抗結核〕、エバメクチン〔抗寄生虫〕などがある。これまでは主に、ストレプトマイセス属放線菌の生産する抗生物質の開発は活発に行われてきたが、近年ではより特異性が高く細胞毒性の無い新規抗生物質、新しい生理活性のある物質を取得するために、ストレプトマイセス属だけでなく、希少放線菌もあわせてスクリーニング研究が行われている。



Streptomyces griseus



抗生物質
ストレプトマイシン



結核菌

1943年に発見された。*Mycobacterium tuberculosis*（結核菌）の生育を阻止する。不治の病として知られていた、結核から多くの人を救った。

放線菌

二次代謝

抗生物質

実用化

医薬品、農薬、動物薬、
酵素阻害剤

新規微生物代謝物の7割が放線菌由来！

まだ見つからない新しい抗生物質をつくる放線菌が土壤にはたくさんいると考えられており、研究者は土から新しい放線菌を探している。

野生株. 変異株シネフンギン生産量比較

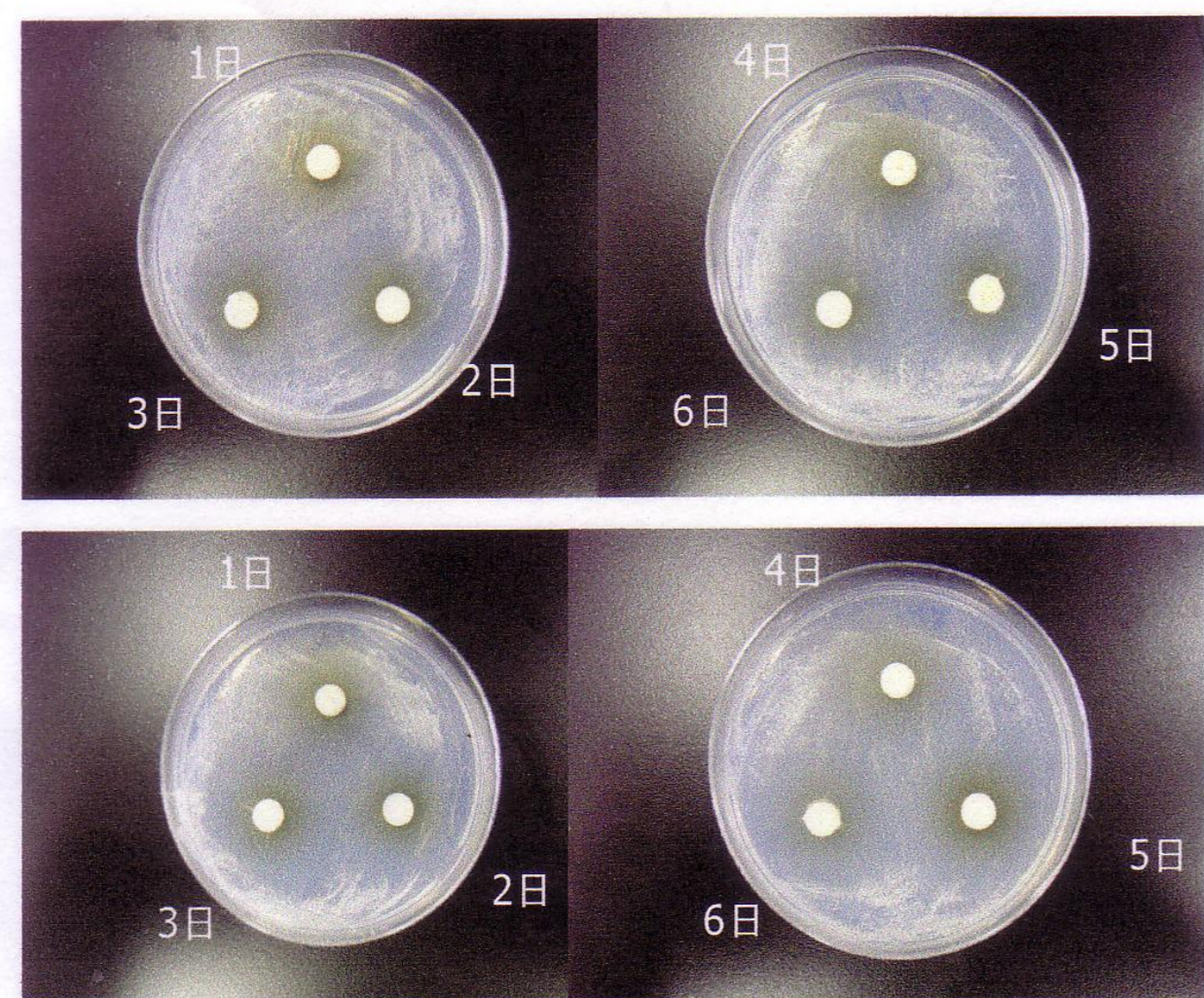
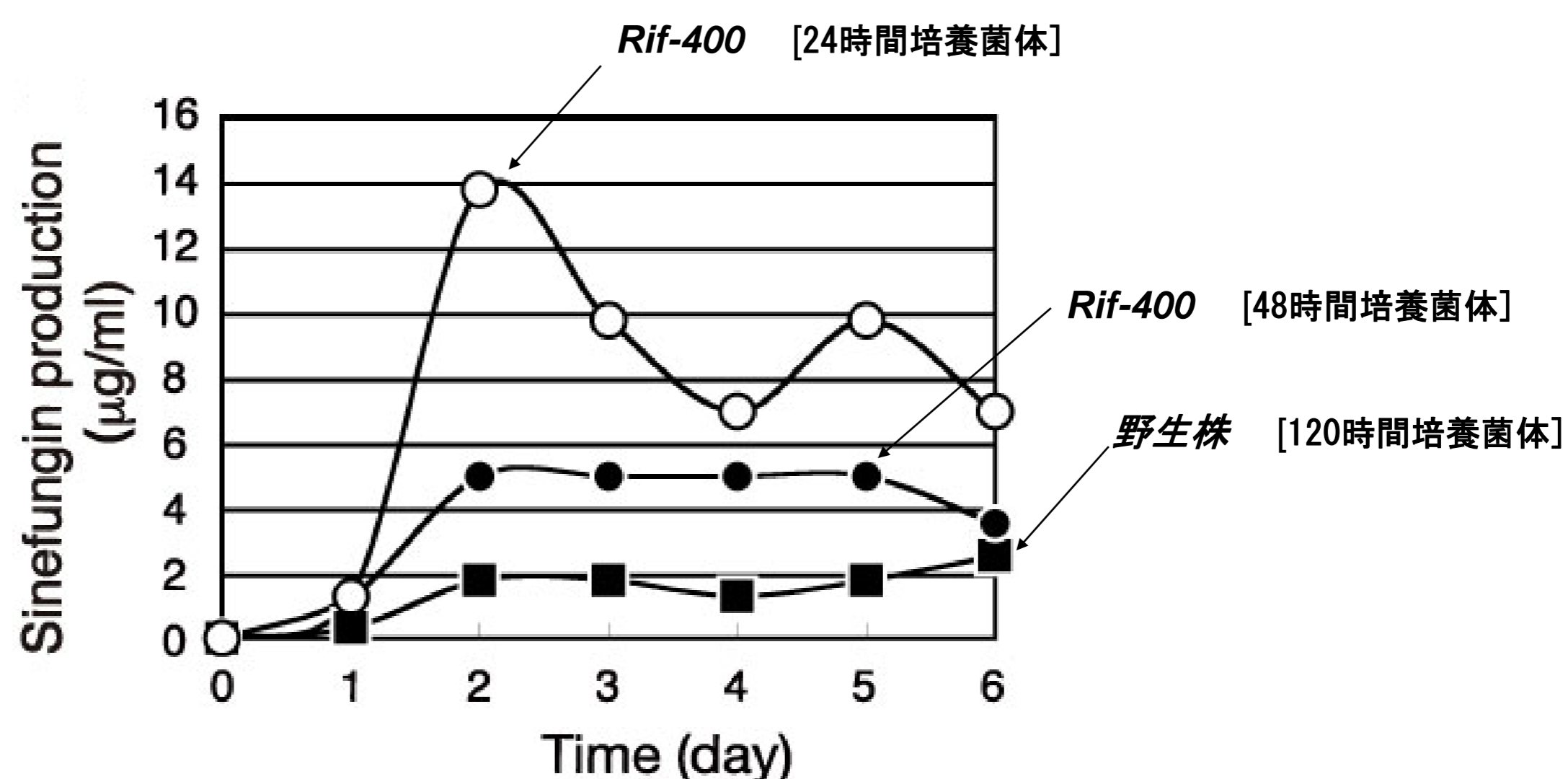


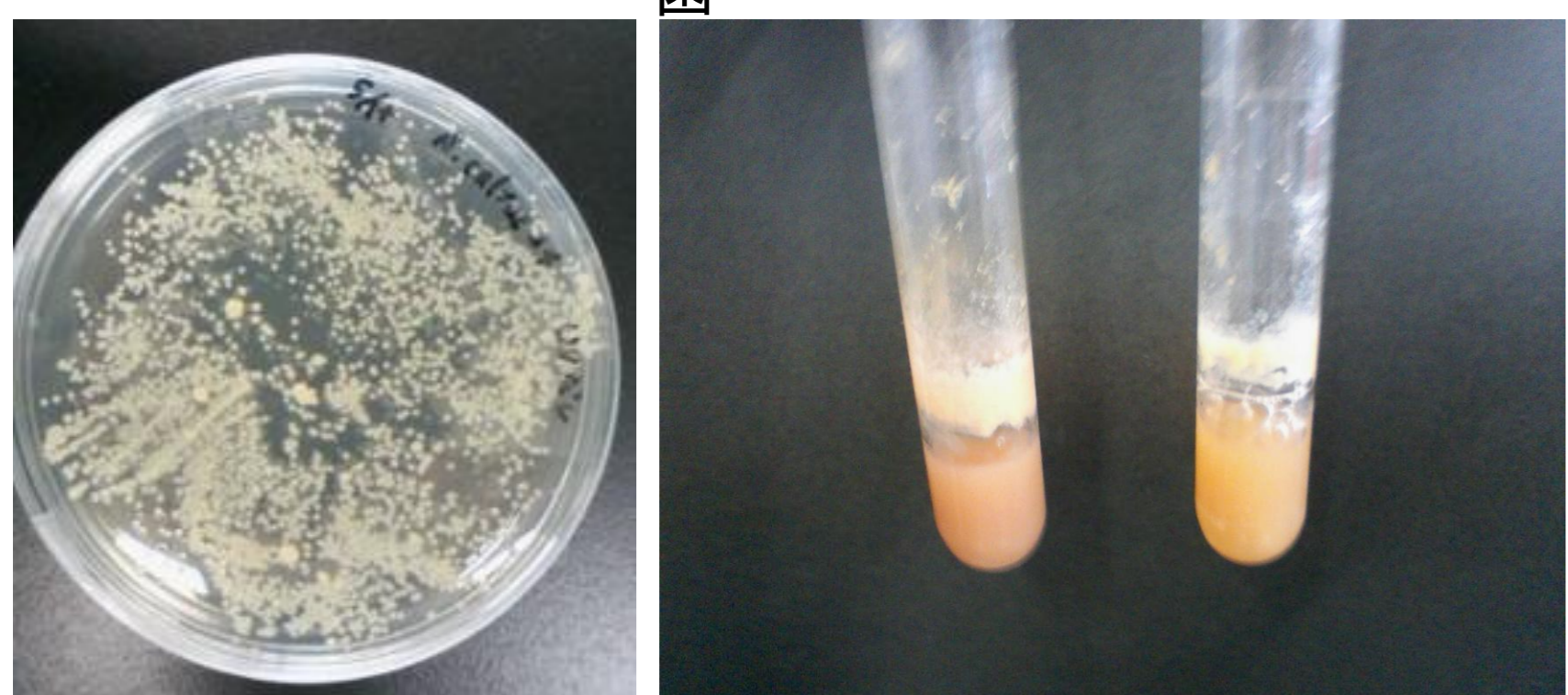
Fig. バイオアッセイによるシネフンギン生産性比較
→変異株は野生株の7倍量のシネフンギンを生産



変異株は野生株の約7倍量のシネフンギンの生産が認められた。今回の結果からヌクレオシジン系抗生物質においても、RNAポリメラーゼへの変異導入が有効であるということが示唆された。

Streptomyces calvus / ヌクレオシジンnucleocidin生産菌

放線菌ストレプトマイセス属 / ストレプトマイセスカルバス / ヌクレオシジン生産菌



Streptomyces calvus

放線菌 *Streptomyces calvus* は1957年にインドで発見された。二次代謝でヌクレオシジン系化合物であるNucleocidin(ヌクレオシジン)を生産する。生育は他のストレプトマイセス属に比べ遅く、液体培養では細かい粒状の菌糸体が増殖する。ヌクレオシジンはフッ素を含む有機化合物であり、その生合成についての研究を行っている。いくつかのグラム陽性菌、陰性菌、トリパノゾーマ原虫に有効である。

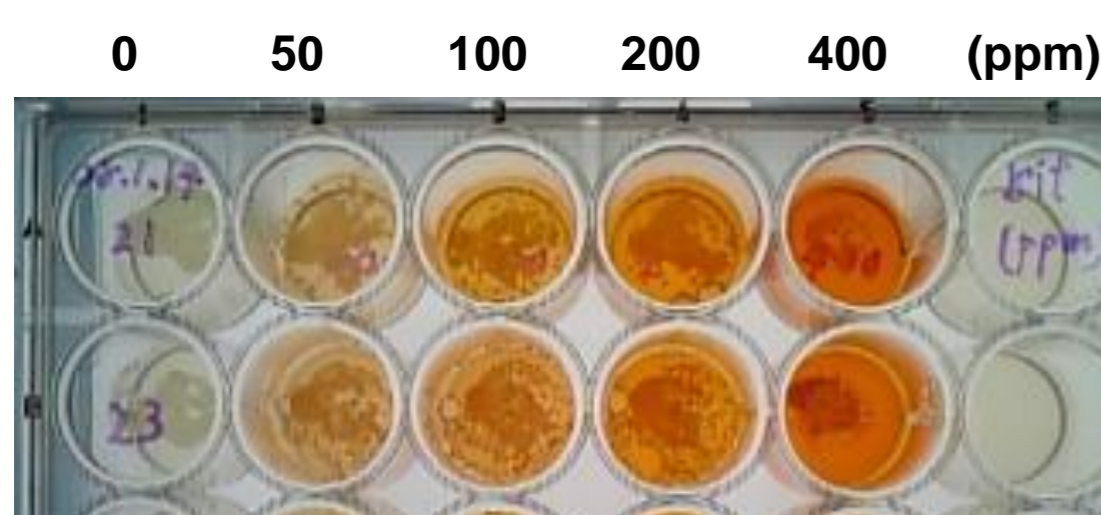
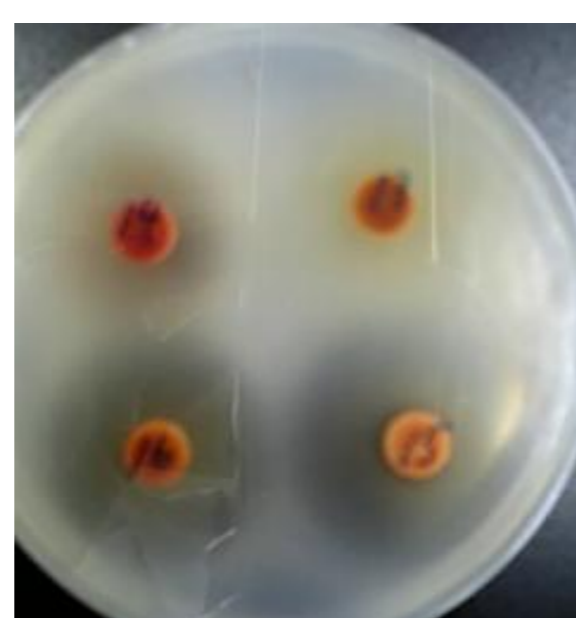


Fig. リファンピシン耐性株取得 (*S. calvus*)

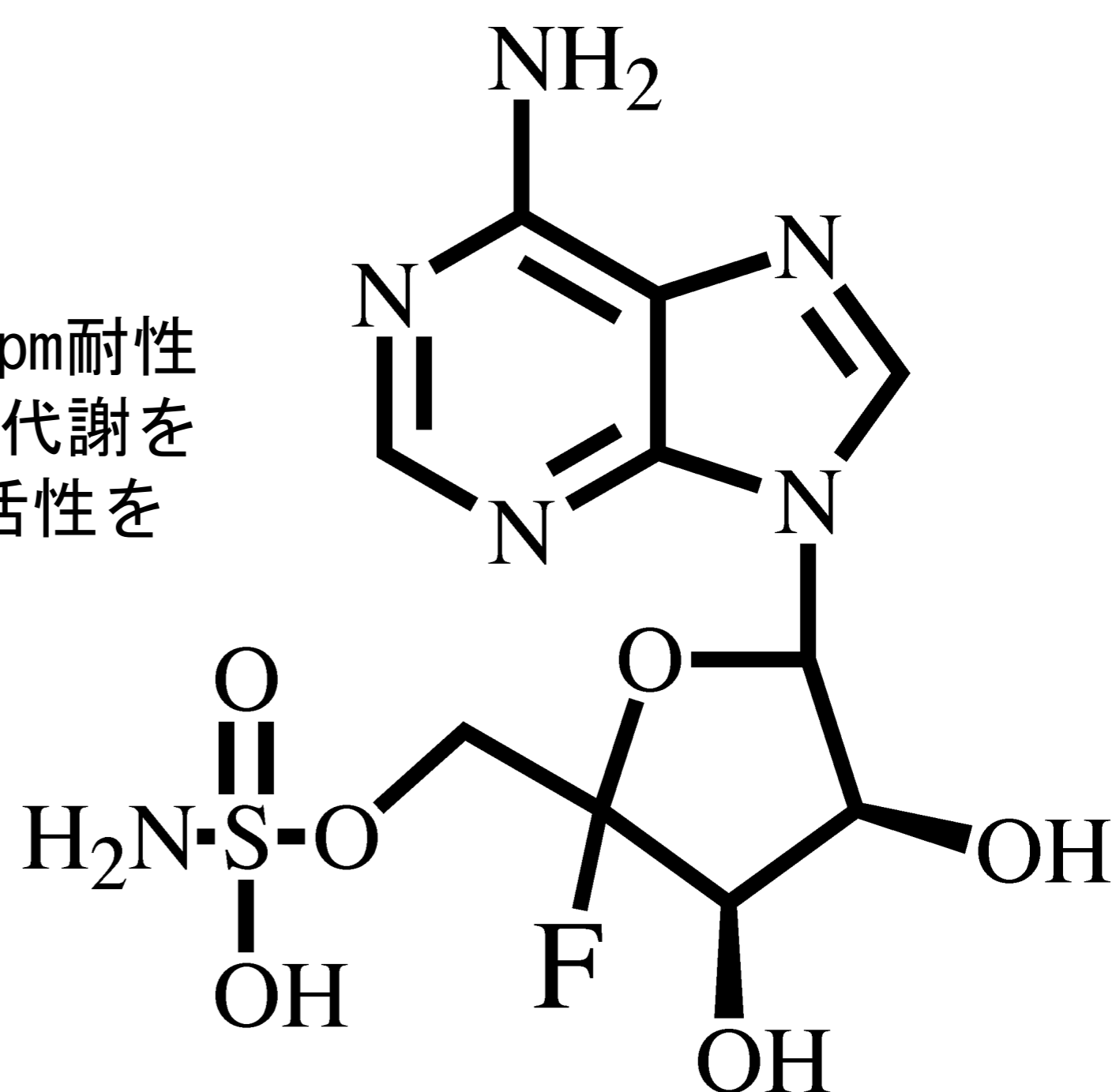


リファンピシン400 ppm耐性株 (rif変異株) は二次代謝を活性化し、高い抗菌活性を示した。

抗菌活性

RNAポリメラーゼへの変異導入 (rif変異)

Nucleocidin



結論 薬剤耐性を指標とする育種は省力的であり効果は劇的である。
変異効率を上げる秘訣は、栄養要求性を指標とする最適化を行うことである。

参考文献

1. H.F. Hu, K. Ochi, Appl. Environ. Microbiol. 67 (2001) 1885–1892.
2. J. Xu, Y. Tozawa, C. Lai, H. Hayashi, K. Ochi, Mol. Gen. Gen. 268 (2002) 179–189.
3. N. Tamehiro, T. Hosaka, J. Xu, H. Hu, N. Otake, K. Ochi, Appl. Environ. Microbiol. 69 (2003) 6412–6417.