

博士論文の内容の要旨

氏名	星野 颯
学位名	博士 (医工学)
学位授与年月日	2022年3月20日
論文題目	放線菌における薬剤耐性変異の特性解析と 二次代謝活性化への応用

(博士論文の内容の要旨)

1944年に放線菌 *Streptomyces griseus* の二次代謝産物から抗結核薬ストレプトマイシンが発見されて以来、放線菌 抗生物質の供給源として、感染症治療に多大な貢献を果たしてきた。一方で、抗生物質の開発と利用 薬剤耐性菌を生み出す原動力にもなっている。近年で あらゆる抗生物質が効かない多剤耐性菌も出現し、それらへの感染症が拡大し続けている。薬剤耐性菌への様々な 策が求められる中、 たな抗生物質の開発 緊の課題である。

年の ノムプ ジェクトの成果から、放線菌の二次代謝に関する遺 の多くが潜在的に存在することが判っている。放線菌の潜在的二次代謝の活性化により、様々な抗生物質が発見されている。転写・翻訳を標的とする抗生物質に耐性を示す 然突然変異体を放線菌から 離すると、二次代謝産物の高生産株が得られることがある。このような薬剤耐性選抜法 放線菌の潜在的二次代謝活性化に有効であることが知られている。本論文で 、放線菌における潜在的二次代謝活性化への応用に向け、DNA 複製・翻訳を標的とする抗生物質への耐性変異の特性を明らかにすることを目的とした。

エリス マイシン耐性を 与する 23S リボソーム RNA (rRNA) 遺 変異

エリス マイシン 、細菌のリボソーム 50S サブユニットを標的とし、翻訳を阻害するマクライド系抗生物質である。放線菌がエリス マイシン耐性変異を獲得すると、二次代謝が活発になり、抗生物質を高生産することがある。先行研究において、*Streptomyces* 属放線菌の抗生物質高生産エリス マイシン耐性変異株が 23S rRNA 遺 に点変異を持つことが明らかにされている。本章で 、23S rRNA 変異による二次代謝活性化メカニズムを解析した。

放線菌基準株 *Streptomyces coelicolor* A3(2) とその類縁種 *Streptomyces lividans* 66 から 然突然変異体として取得した抗生物質高生産エリス マイシン耐性変異株 それぞれ、*rrnA*-23S rRNA-A2302T 変異と *rrnC*-23S rRNA-A2281G 変異を有する。このことを踏まえ、両菌株において、各変異を導入した形質転換体エリス マイシン耐性変異株の性質を、親株や 然突然変異体の性質と比較することで、23S rRNA 変異の特性を解析した。その結果、23S rRNA 変異に 遺 的不安定化作用があり、それにより同変異を有する菌株で 、 加的変異の発生が高まる可能性を見出した。興味深いことに、23S rRNA 変異のみで 抗生物質高生産化 起こらないものの、23S rRNA 変異と 加的変異が組み合 さると、抗生物質高生産化が起こることが判った。この抗生物質高生産の原因 、変異の組み合 せに依存した二次代謝制御遺 の高発現であることも明らかにした。以上の事実から、23S rRNA 変異の遺 的不安定化作用により 加的変異が発生し、それら変異の組み合 せ次第で、二次代謝活性化が起こるものと結論づけた。

オフ キサシン耐性変異

オフ キサシン 、細菌のⅡ型トポイソメラーゼを標的とし、DNA 複製を阻害するフルオ キノン系抗生物質である。本章で 、この DNA 複製を標的とする抗生物質を活用し、放線菌の潜在的二次代謝を活性化できるか否か検証した。

S. coelicolor A3(2) を含む 5 種の放線菌より、オフ キサシン耐性変異株を取得し、二次代謝産物の生産を調べた。その結果、*S. coelicolor* A3(2) で 、色素抗生物質アク ノージンやウンデシルプ ジギオシン、メ レノマイシン A、もしくは カ テノイドを高生産するオフ キサシン耐性変異株が得られた。このような二次代謝の活性化 、その他の放線菌においても認められた。興味深いことに、*S. coelicolor* A3(2)、*S. lividans* 66、および *Streptomyces vietnamensis*

NBRC 104153 の一部の変異株、オフキサシン存在下でのみ著しい抗生物質高生産を示した。以上の結果、オフキサシン耐性変異株の取得(遺学的作用)とオフキサシン存在下での培養(生理学的作用)を活用することにより、放線菌の潜在的二次代謝を劇的かつ多様に活性化できることを示唆した。

オフキサシン耐性と二次代謝活性化に関する変異の特定に向け、*S. coelicolor*A3(2)より取得した変異株の変異を解析した。その結果、解析した全ての変異株が TetR ファミリー転写因子遺伝子のフレームシフト変異を有すること、加えて、それらのうちオフキサシンに対して高レベル耐性を示す変異株 RNA ヘリカーゼ遺伝子にも変異を持つことが判明した。TetR と RNA ヘリカーゼ遺伝子の先行知見から、両遺伝子の変異がオフキサシン耐性および二次代謝活性化への関与が示唆された。

本論文で、放線菌における翻訳を標的とする抗生物質への耐性変異による二次代謝活性化の基本原理を明らかにした。加えて、DNA 複製を標的とする抗生物質への耐性変異が放線菌の二次代謝活性化に有効であることを新たに見出した。