

氏名(国籍)	徐 俊 (中国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第3091号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	Studies on Regulation of Antibiotic Production by Introducing Mutations into RNA Polymerase and Ribosomal Protein L11 in <i>Streptomyces</i> spp. (転写および翻訳機構からみた放線菌二次代謝の制御メカニズムに関する研究—RNAポリメラーゼとリボゾーム蛋白質L11の変異株解析を中心として—)
主査	筑波大学教授 農学博士 小林 達彦
副査	筑波大学教授 農学博士 馬場 忠
副査	筑波大学教授 農学博士 深水 昭吉
副査	筑波大学教授 理学博士 山根 國男

論文の内容の要旨

放線菌は、抗生物質生産菌として重要な細菌であることから、抗生物質が作られるメカニズムの解明は重要な課題である。抗生物質生産に代表される微生物の二次代謝は、形態分化と同調して開始されるのが特徴である。また、これらは遺伝学的にも深くリンクしていることが示されている。この二次代謝という概念で捉えられる抗生物質生産は、アミノ酸合成・核酸合成などに代表される一次代謝に比べ、より複雑な制御下にある。換言すれば、二次代謝の高レベル発現は必ずしも容易ではなく、この点から二次代謝を微生物における滞在機能の表現のひとつと見なすことも出来る。微生物の中でも原核微生物(細菌)は、緊縮制御という環境応答システムを有している。アミノ酸欠乏に呼応してリボゾーム上でグアノシン5'-ニリン酸3'-ニリン酸(ppGpp)が生成され、このppGppがRNA合成の抑制をはじめ、幾多の生理的機能を発揮する機構が緊縮制御と呼ばれるものである。これまで、長年、二次代謝誘発と緊縮制御の関係についての研究が進められてきたが、最近に至りppGppが二次代謝誘発の引き金物質であることが分子生物学レベルで実証された。この研究過程において、更に興味のある事実、すなわちリボゾームに生じた特定の変異は細菌の二次代謝能を顕在化するという事実が発見された。このことは、リボゾームの第一義的な役割は生育期における蛋白質合成ではあるが、これに加えて、リボゾーム自体が極めて動的に変容することにより遺伝子発現を積極的に制御している可能性を示すものである。そこで、本論文では、この問題についての知見を得るために以下の点に焦点をあてた研究を行った。

ppGpp合成能が失われた放線菌 *S. coelicolor* 変異株 *relA* では、抗生物質アクチノロージン生産能が著しい減少することなどから、ppGppの蓄積が抗生物質生産の制御に大きな役割を担っていることが示唆されてきた。しかしながら、ppGppの直接の標的が何であるかに関する知見は放線菌においてはまだ明らかではなかった。大腸菌においては、ppGppが主にRNAにポリメラーゼのコア酵素に作用して転写制御を誘発することが明らかにされてきたことから、本論文では、放線菌においてもppGppシグナルの標的候補としてRNAポリメラーゼのコア酵素を想定し、RNAポリメラーゼのコア酵素の複数の変異株を取得してそれらの抗生物質アクチノロージンの生産能についての解析を進めた。さらに、他の放線菌に関してもRNAポリメラーゼコア酵素の変異と抗生物質生産との関連性について解析を進めた。これらの結果から、RNAポリメラーゼコア酵素の変異によるアクチノロージン

ン生産能の上昇は、野生株同様、pathway-specific-regulatorであるAct II ORF4蛋白質を介在するものであることが見出された。本研究は、今後の抗生物質高生産性放線菌の分子育種に役立つものである。

審 査 の 結 果 の 要 旨

放線菌は、古くから抗生物質生産菌として医学的に重要な微生物である。本研究は、放線菌の抗生物質生産能の改良を目指し、そのために必要な基礎的知見を得た点で高く評価されると思われる。具体的には、*S. coelicolor*のアクチノロージン生産系をモデルとした遺伝学的解析により、緊縮制御、リボソーム、RNAポリメラーゼコアといった複雑な調節機構の一部を明らかとした。実験手法と論旨は明快であり、研究成果は、今後の抗生物質生産のための培養工学分野の進展に大きく寄与するであろう。また、ppGppの二次代謝誘発におけるターゲット、リボソームの機能を変化させる会合蛋白質、潜在機能の発現に必要なリボソーム変異などを分子レベルで同定した点は、研究の質・量的にも博士の学位に値するものと思われる。得られた研究成果は、微生物の育種または新規生理活性物質の探索に活用可能な実用性の富んだものである。

以上のように、本研究は、放線菌の抗生物質生産の分子機構に関する研究にとって重要な結果をもたらしたといえる。従って、得られた成果の役割は大きいと判断する。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。