

土の中に潜む放線菌生物資源の発掘

荒川 賢治

放線菌は肥沃な土壌1g中に約100万個存在する土壌微生物であり、土壌生態系における環境浄化や物質循環に貢献している。放線菌が有用である理由の一つに、抗生物質を含めた多種多様な二次代謝産物の生産能力が挙げられる。二次代謝産物とは生物自身が生産し、生育自体には直接関係しない各生物種固有の化合物である。これらには顕著な生理活性を持つものが多く、また構造多様性やユニークな生化学反応の宝庫でもある。今までに微生物から単離された22,500種類の生理活性物質のうち、約45%が放線菌によって生産されており、現在でも貴重な抗生物質の探索源となっている。実際に細菌感染症治療薬ストレプトマイシンやエリスロマイシン、抗寄生虫薬エバームекチン、抗ガン剤ダウノマイシン、免疫抑制剤 FK506 などの有用生理活性物質は放線菌によって生産されている。放線菌の中で代表的な属は *Streptomyces* 属であり、土壌中の分布頻度から考えても大勢を占めている。*Streptomyces* 属放線菌の興味深い特徴として、染色体およびプラスミドの線状構造、複雑な形態分化、そして抗生物質をはじめとする多種多様な二次代謝産物の生産能が挙げられる。

それでは放線菌一株あたり何種類の二次代謝産物を生産できるのだろうか？ *Streptomyces* 属放線菌の代表株である *Streptomyces coelicolor* A3 (2) の全ゲノム塩基配列が2002年に決定された²⁾。染色体は全長8.66 Mb の線状ゲノムであり、7,825個の読み枠 (open reading frame, ORF) が推定された。その中には青色色素アクチノロジンなど20個もの二次代謝産物生合成遺伝子群が見つかった。エバームекチン生産菌 *Streptomyces avermitilis* では32個³⁾、ストレプトマイシン生産菌 *Streptomyces griseus* では34個⁴⁾ の生合成遺伝子群が見つかり、本属における二次代謝生合成遺伝子の多様性が明らかとなった。さらに近年では次世代シーケンズ技術の革新的進歩および低廉化により、26菌株もの *Streptomyces* 属放線菌の全ゲノム配列が解析された (2010年11月現在)⁵⁾。今後さらに放線菌のゲノム解析が進むことによって、化学構造および生物活性上興味深い二次代謝生合成遺伝子が多数発見できると思われる。

さて上述の通り、放線菌ゲノムには平均20–40種類の二次代謝生合成遺伝子群が存在しているが、いったいどのくらい機能しているのだろうか？ たとえば *S. griseus* では、ストレプトマイシンの他に黄色色素グリキサゾンなど6種類の二次代謝産物を生産すると報告されている⁴⁾。すなわち、残り28種類の二次代謝産物は構造未知である。他の菌株でも同様の傾向であり、約8割はゲノムの中に「埋もれている」といえよう。新規生理活性物質の発見が停滞している昨今、放線菌ゲノムを生物資源として有効活用し、潜在的二次代謝産物をさまざまな手段で

発掘しようという試みが世界中で行われている。培地組成の条件検討もさることながら、現在では遺伝子工学を駆使して (1) 生合成遺伝子群の異種発現、(2) 抑制遺伝子の遺伝子破壊による生産性向上、(3) アクティベーター遺伝子の強制発現、など数多くの手法が考案され、二次代謝遺伝子の覚醒技術が確立されつつある。

また、既存の二次代謝産物骨格を生合成酵素により人為的に改変する試みも行われている。ポリケチド合成酵素や P450 水酸化酵素、糖転移酵素などを従来の基質以外にも適用して多様な「非天然型」分子構造が得られている。また基質認識を司るアミノ酸残基を改変した変異酵素を用いることで、炭素鎖長や環骨格の異なる分子も構築可能となっている。酵素特有の基質特異性を考慮する必要はあるが、生合成酵素を適切に組み合わせる (combinatorial biosynthesis) ことで、従来の骨格にとられない分子多様性を作り出すことができる。

最近、異種菌同士のゲノム水平伝播による新規代謝産物創製の可能性も見いだされた。ペプチド系抗生物質アクチノマイシン生産菌 *Streptomyces padanus* と抗生物質非生産菌 *Rhodococcus fascians* とを共培養したところ、ほとんどの *R. fascians* は *S. padanus* と共存できなかったが、一株のみ生育しており、これは逆に *S. padanus* の生育を阻害していた⁶⁾。本株を詳細に調べたところ新規アミノグリコシド系抗菌物質ロドストレプトマイシンを生産しており、ゲノム中に *S. padanus* 由来の DNA が含まれていた。このことは *S. padanus* ゲノムに含まれるストレプトマイシン生合成遺伝子群 (眠った状態) が *R. fascians* に水平伝播し、そののち生合成遺伝子群が活性化され、*Rhodococcus* 内の修飾酵素が作用してロドストレプトマイシンが生産された、ということの意味する。本知見は二次代謝遺伝子の新たな覚醒手法を提供するものであり、たいへん興味深い。

以上紹介してきたとおり、次世代シーケンサーにより放線菌ゲノム情報が解読され、それをもとに新規化合物の探索が進み、生合成酵素の人為的改変による「非天然型」代謝産物の創製技術が組み合わせられることで、二次代謝産物ライブラリーの数も飛躍的に増加すると思われる。それを契機に生物活性スクリーニングの再検討も行われ、分子標的の探索ツールや医薬薬の新規開発にもつながることが大いに期待される。

- 1) Berdy, J.: *J. Antibiot.*, **58**, 1 (2005).
- 2) Bentley, S. D. et al.: *Nature*, **417**, 141 (2002).
- 3) Ikeda, H. et al.: *Nat. Biotechnol.*, **21**, 526 (2003).
- 4) Ohnishi, Y. et al.: *J. Bacteriol.*, **190**, 4050 (2008).
- 5) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- 6) Kurosawa, K. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 1126 (2008).