

ゲノム情報を利活用した休眠二次代謝の活性化

見崎 裕也¹・荒川 賢治^{2*}

結核治療薬ストレプトマイシンが、1944年にワックスマン博士らによって報告された。本抗生物質は放線菌 *Streptomyces griseus* の発酵生産により得られたものであり、ストレプトマイシンの発見以来、数多くの抗生物質が放線菌より単離された。近年では2015年に大村智博士らがノーベル生理学・医学賞を受賞したことは記憶に新しいだろう。その内容は、線虫感染症の新規治療法の発見によるものであり、*S. avermitilis* の代謝産物からアベルメクチンを発見したことが契機となっている。さらに、天然由来抗生物質の2/3近くは放線菌から取得されていること、抗生物質に加えて免疫抑制剤などの有用な生理活性物質を放線菌が生産することなどから、放線菌は人類が豊かな生活を送るうえで重要な役割を果たしている。また、多剤耐性菌の出現により、新しい抗菌性を示す化合物の発見が喫緊の課題となっている。しかし、天然資源からの生理活性物質の単離報告は減少傾向である。

そのような状況の中、DNAシーケンス技術の向上により、生物の遺伝情報を安価かつ迅速に取得することが可能になった。放線菌のゲノムについても相次いで解読されており、一菌株あたり30近くもの二次代謝産物遺伝子クラスターを有することが判明した。しかし、通常の培養条件下で生産する二次代謝産物は数個程度であることから、大多数の生合成遺伝子クラスターは休眠状態にあると言える。これらを踏まえ、ゲノムマイニングという手法が考案された。本手法はゲノムから得られる情報を基軸とした休眠二次代謝活性化戦略のことを指す。例として、ドナー菌株から生合成遺伝子クラスターをクローニングし、二次代謝生産性を改善したホスト菌株に導入する異種発現 (Heterologous expression)、生合成経路や制御遺伝子の改変などのパスウェイエンジニアリングなどがある。

代謝工学の一環としてゲノムマイニングを行う場合、標的遺伝子の選択が重要となってくる。抗生物質生産に至るには、関連する生合成遺伝子が協調して発現している必要がある。関連遺伝子が同一オペロン上に存在しない場合、複数の遺伝子を一括して発現させることが重要である。その役割を担うのが、DNA結合型転写活性化因子 SARP (*Streptomyces* antibiotics regulatory protein) である。SARP 遺伝子は主に二次代謝クラスターの境界に位置していることが多く、当該遺伝子群を一元的に活性

化して、抗生物質生産を誘導する。そのため、本遺伝子を強制的に発現させることで、当該生合成遺伝子クラスターの活性化が期待できる。

Danyao らは、SARP の強制発現を施すことで、新規代謝産物の取得を試みた¹⁾。*Streptomyces* sp. MSC090213JE08 はゲノム上に計10個のSARPを保有しており、そのうち7つについて強制発現を施した。その結果、4つの強制発現株で代謝産物に変化が見られた。この事実、通常の培養条件下ではSARPが休眠状態であるため、化合物生産に至っていないことを示唆している。また、Chen らは *S. fungicidicus* の有するSARPを強制発現させることでエンジュラサイジン生産が4倍に増加することを見いだした²⁾。このことは代謝工学における制御遺伝子改変の有効性を実証している。

SARPによる制御機構も多様化していることがSuzuki らにより示された³⁾。*S. rochei* の生産するランカサイジンおよびランカマイシンの生産制御カスケードにおいて、まず、ランカサイジン生産はSARPであるSrrYによって活性化される。ランカマイシンについても同様に、SARPであるSrrZが活性化を担っているが、SrrZの発現はSrrYにより制御されている。つまり、ランカマイシン生産はSARP (SrrY→SrrZ) による2段階の活性化によって誘導される。いずれの例にせよ、抗生物質生合成遺伝子の直接的活性化を担うといった共通機能を維持している点を鑑みると、SARPはゲノムマイニングを行ううえで格好の標的と言えるだろう。

本稿では、ゲノム情報に基づいた休眠二次代謝活性化について述べた。しかし、遺伝子組換えを積極的に使用しない活性化技術として、シグナル分子などの二次代謝生産を誘発する誘導剤の添加、他種菌株との共培養なども精力的に研究が進められている。今後、これらの活性化技術について研究が展開されることで、新規化合物の取得のみならず、機能未知遺伝子の機能解析や微生物進化についての知見が得られるだろう。

- 1) Danyao, D. et al.: *ChemBiochem*, **17**, 1464 (2016).
- 2) Chen, Y. et al.: *J. Appl. Microbiol.*, **127**, 1698 (2019).
- 3) Suzuki, T. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 819 (2010).