

講演番号：2B21a11

講演日時、会場：3月25日 11:00～ B校舎21会場

複合誘導法の開発：複合系培養法による抗生物質生合成遺伝子の発現誘導

The combined induction, increasing of secondary metabolites in heterologous expression strains by the combined culture

○尾仲 宏康<sup>1,2</sup>、伊澤 真澄<sup>2</sup>、森 夕希子<sup>2</sup> (1東大院農生科・応生工、<sup>2</sup>富山県大・生工研)

○Hiroyasu ONAKA<sup>1,2</sup>, Masumi IZAWA<sup>2</sup>, Yukiko MORI<sup>2</sup> (1Dept. Biotechnology, Univ. of Tokyo, <sup>2</sup>Dept. Biotechnology, Toyama Pref. Univ.)

【目的】近年の放線菌ゲノム解析の進歩により1種類の放線菌が生産する二次代謝産物数は少なく見積もっても約30種類であることが明らかとなったが、二次代謝は生育環境や生育条件によって大きく変化し、実際の実験室レベルでの純粋培養によって同定される二次代謝産物は1株あたり数種類にとどまっている。複合培養は放線菌とミコール酸含有細菌を共培養するだけの簡便な培養法であるが、純粋培養では生産しなかった二次代謝が複合培養時にのみ観察される事から二次代謝生産に適した共培養法であるといえる<sup>1)</sup>。複合培養法を用いて *Streptomyces endus* S-522 が生産する新規抗生物質・アルキベマイシンをこれまでに発見しているが、アルキベマイシンも純粋培養では生産しない抗生物質であった<sup>2)</sup>。本講演では複合培養法概念を拡張し、生合成遺伝子クラスターを異種発現させた遺伝子組換え株においても複合培養を行った結果、異種発現二次代謝産物の増大が認められたことについて報告する。

【方法】*Streptomyces lividans* ゲノム内に存在する cryptic 生合成遺伝子群であるアクチノロージン、ウンデシルプロディギオシン両生合成遺伝子群は複合培養によって発現し、これら二種類の色素生産をするようになる。複合培養に最適な *S. lividans* の染色体上に *Streptomyces* sp. TP-A0584 由来ゴードスポリン生合成遺伝子群、*Streptomyces* sp. TP-A0274 由来スタウロスポリン生合成遺伝子群、*Lechevarieria aerocolonigenes* 由来レベッカマイシン生合成遺伝子群をそれぞれクローニングした異種発現株を作製した。これらの異種発現株をミコール酸含有細菌である *Tsukamurella pulmonis* もしくは *Corynebacterium glutamicum*、*Rhodococcus erythropolis* と複合培養し、その生産量を HPLC にて定量した。

【結果及び考察】それぞれの生産量を純粋培養時の生産量と比較したところ、ゴードスポリン異種発現株と *C. glutamicum* との複合培養を除く全ての組み合わせにおいて複合培養時に生産量の増大がみられた。ゴードスポリンにおいては *T. pulmonis* との組み合わせで最大 5.1 倍、スタウロスポリンにおいては *R. erythropolis* との組み合わせで最大 8.1 倍、レベッカマイシンにおいては *R. erythropolis* との組み合わせで最大 25.7 倍の生産量の増大が見られた。以上の事から、*S. lividans* を宿主にした二次代謝生合成異種発現株は複合培養によって生産量の増大が高頻度でみられることが明らかとなった。以上の結果を踏まえ、二次代謝生産に有効な手段である本手法を複合誘導法と命名した。

1) H. Onaka *et al.*, *Appl Environ Microbiol.* 77(2): 400-406 (2011)

2) Y. Igarashi *et al.*, *Org Lett.* 12(15): 3402-3405 (2010)

*Streptomyces*, antibiotics production, combined culture