

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 平野 節

本論文は放線菌の形態分化、二次代謝の制御機構について新たな知見を得ることを目的とし、ゲノム情報や網羅的な転写解析データから着目した個々の遺伝子について詳細な機能解析を行った結果を論じたものである。本論は全部で5章からなる。

第1章では、分泌型プロテアーゼと形態分化の関連性を明らかにすることを目的として、放線菌の有する分泌型プロテアーゼ阻害蛋白質 SSI (*Streptomyces subtilisin inhibitor*) に注目した解析を行った。放線菌 *Streptomyces griseus* のゲノム上に SSI 様蛋白質をコードする遺伝子をただ1つ見出し、*sgiA* と命名した。SgiA は *in vivo*、*in vitro* どちらにおいてもプロテアーゼ阻害蛋白質として機能することを示した。また、組換え SgiA を菌体の傍に大量に添加することで *S. griseus* の気中菌糸形成が大幅に遅れることを明らかにした。この結果から分泌型プロテアーゼの活性を阻害することで形態分化が抑制されることが示された。以上のように、本研究は形態分化に対する分泌型プロテアーゼの重要性を強く裏付けるものである。また *sgiA* の転写は他の分泌型プロテアーゼをコードする遺伝子と同じく、形態分化と二次代謝を司る転写因子 AdpA によって活性化されることが示された。プロテアーゼとそのインヒビターという逆の機能を持つ蛋白質が、遺伝子発現において同様の転写制御を受けていることは非常に興味深い。

第2章では、ストレプトマイシン生産を制御する新規転写因子 AtrA-g についての解析を行った。AtrA-g はストレプトマイシン生合成経路特異的転写活性化因子をコードする *strR* のプロモーター上流配列に結合することを示し、*atrA-g* の遺伝子破壊により *S. griseus* の生産するストレプトマイシン量が低下することを示した。この時 AtrA-g がストレプトマイシン生産に対して与える影響は AdpA と比較して弱いものであった。また、*adpA* 破壊株で *atrA-g* の転写は野生株と変わらず観察されることも明らかとなった。以上の結果は AtrA-g は A-ファクターカスケードとは独立にストレプトマイシン生産のマイナーチューニングを行う役割を持つことを示しており、またこの菌における A-ファクター、AdpA 経路の重要性を強く示唆するものである。

第3章では、A-ファクターに応答して転写される *wbl* (*whiB-like*) 遺伝子に着目して解析を行った。*S. griseus* のゲノム上にコードされた7つの *wbl* 遺伝子と1つの *whiB* 遺伝子のうち、5遺伝子 (*wblC*, *wblI*, *whiD*, *wblA* と *whiB*) の転写が AdpA に依存することを示し、これら遺伝子の転写は何らかの因子を介して AdpA により間接的に活性化されることを明らか

にした。またこれら AdpA 依存的に転写される *wbl* 遺伝子のうち、*wblA* は気中菌糸の形成に、*whiB* は孢子形成初期に、*whiD* は孢子の成熟と隔壁形成位置に影響を与えることを示した。本研究は孢子形成に関わるものと予想されていた *wbl* 遺伝子が気中菌糸形成をも制御することを示した初めての例であり、この研究から *wbl* 遺伝子群は放線菌の形態分化を複数の段階にわたって制御する重要な遺伝子群であることが示された。

第4章では、ECF シグマ因子をコードする遺伝子 *adsA* に注目して解析を行った。*adsA* 破壊株は気中菌糸を形成できないが、AdsA はどのような遺伝子の転写を制御することにより気中菌糸形成を引き起こすのかを解析した。その過程において、*bldM* が AdsA の標的遺伝子であることを示し、BldM は *chp*、*rhl* 遺伝子の転写を制御することを明らかにした。同時に AdsA-BldM にその転写が強く依存する遺伝子として新たに *SGR3164*、*SGR4023*、*SGR4256* を同定した。一方で *adsA* 破壊株の表現型は *bldM* の強制発現では相補されないことを示し、AdsA が *bldM* 以外の遺伝子の転写を制御する可能性を示唆した。

第5章では、AdpA が結合できる最短のオリゴヌクレオチドはどのくらいの長さであるのかを検討し、AdpA は結合コンセンサス配列に加えて2塩基程度の余裕がないと DNA 断片に結合できないことを示した。

以上、本論文は放線菌 *S. griseus* を研究対象として、着目した個々の遺伝子の転写制御と機能解析を介して放線菌の形態分化、二次代謝の制御機構に関する知見を深めたものであり、学術上ならびに応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。