

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大谷 啓志

*Streptomyces griseus*をはじめとする *Streptomyces* 属放線菌は、複雑な形態分化を行うという特徴を有している。放線菌の形態分化に関する遺伝子群とその発現制御機構については、長年、解析されてきたが、未だにその全容は明らかにされていない。本論文においては、比較ゲノム解析に基づいたアプローチによって形態分化に関する新たな遺伝子を同定することを目的に研究が開始され、主要シグマ因子を制御する ECF シグマ因子が発見されたこと、さらに、この特殊な制御系が放線菌の定常期において重要な機能を有していることが述べられている。本論文は序論、本論、総括の三章から構成される。

第一章序論では、これまでに明らかにされてきた放線菌の形態分化に関する遺伝子群やその発現制御機構についてまとめている。また従来の研究方法の問題点を述べるとともに、本論文で行うゲノム情報を利用したアプローチの詳細とその意義について論じている。

第二章本論では、まず、研究対象であるシグマ因子について解説した後、*Streptomyces* 属放線菌 3 種に高く保存されたシグマ因子を *in silico* 解析により絞り込んだ結果を述べている。このうち、未解析であった SGR2758 ( $\sigma^D$ ) と SGR3370 に着目し、以下の解析を行った。

$\sigma^D$  と SGR3370 をコードする遺伝子の破壊株を作製したところ、SGR3370 遺伝子破壊株は野生株と同様の表現型を示したのに対して、 $\sigma^D$  遺伝子破壊株 ( $\Delta sigD$  株) は著しい生育不全を示し、 $\sigma^D$  が *S. griseus* の生育に重要な機能をもったシグマ因子であることが示された。次に、 $\sigma^D$  によって制御される遺伝子を同定するため、DNA マイクロアレイ解析が行われた結果、*sigD* 転写量を低下させた株と野生株との間のトランスクリプトーム比較によって、多くのハウスキーピング遺伝子 (恒常的に発現している生育に必須な遺伝子) の転写が  $\sigma^D$  遺伝子発現低下株で減少していることが示された。ハウスキーピング遺伝子のプロモーターは主要シグマ因子  $\sigma^{HrdB}$  によって認識されるが、 $\sigma^D$  遺伝子発現低下株では主要シグマ因子遺伝子 *hrdB* の転写量も減少しており、 $\sigma^{HrdB}$  の生産量が減少したためにハウスキーピング遺伝子の転写量が減少していると考えられた。そこで、 $\sigma^D$  の直接の標的遺伝子が *hrdB* であるという仮説を立てて、生化学的、遺伝学的アプローチによる詳細な解析を行った結果、この仮説が正しいことが証明された。

このようにして、*S. griseus* では主要シグマ因子遺伝子 *hrdB* が  $\sigma^D$  によって制御されることが示されたが、ほとんどの細菌では主要シグマ因子遺伝子は自己制御されると考えられている。そのため、*S. griseus* で主要シグマ因子遺伝子転写制御系が他の細菌と異なる理由に興味を持たれた。 $\sigma^D$  による *hrdB* の制御の意義を解明するため、他の細菌と同様に *hrdB*

が自己制御される株 (*hrdB* 自己制御株) を作製し、その株の *hrdB* 発現パターンと生育速度を野生株と比較した。野生株では *hrdB* 転写量は定常期で上昇し、 $\sigma^{\text{HrdB}}$  タンパク質量は生育を通して一定であった。一方、*hrdB* 自己制御株では *hrdB* 転写量は生育を通して一定であり、おそらくその結果として、 $\sigma^{\text{HrdB}}$  タンパク質量は定常期で減少していた。また、*hrdB* 自己制御株の生育速度は対数増殖期では野生株と同程度であったが、定常期での菌体の維持に異常が見られ、野生株では菌体量が維持されている培養時間でも溶菌のため菌体量が減少した。さらに、*hrdB* 自己制御株ではストレプトマイシン生産量が著しく低下し、形態分化が遅れることを明らかにした。以上の結果より、 $\sigma^{\text{D}}$  による *hrdB* 転写制御が栄養増殖のみならず定常期での細胞の生存や形態分化・二次代謝にも重要であることを示した。

第三章総括では、本研究における発見の重要性について考察している。また本研究で用いられたアプローチの有用性と今後の研究を発展させるための更なるアイデアについて論じている。

以上、本論文は放線菌 *S. griseus* の主要シグマ因子遺伝子転写制御系に関する研究成果をまとめたものであり、学術上貢献するところが少なくない。また、*Streptomyces* 属放線菌は様々な二次代謝産物を生産することから、本成果は応用研究にも貢献する可能性が高い。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。