

# 植物病害そうか病原菌 *Streptomyces scabiei* に対する抗菌物質の発見 —そうか病をターゲットとした新規農薬の開発に期待—

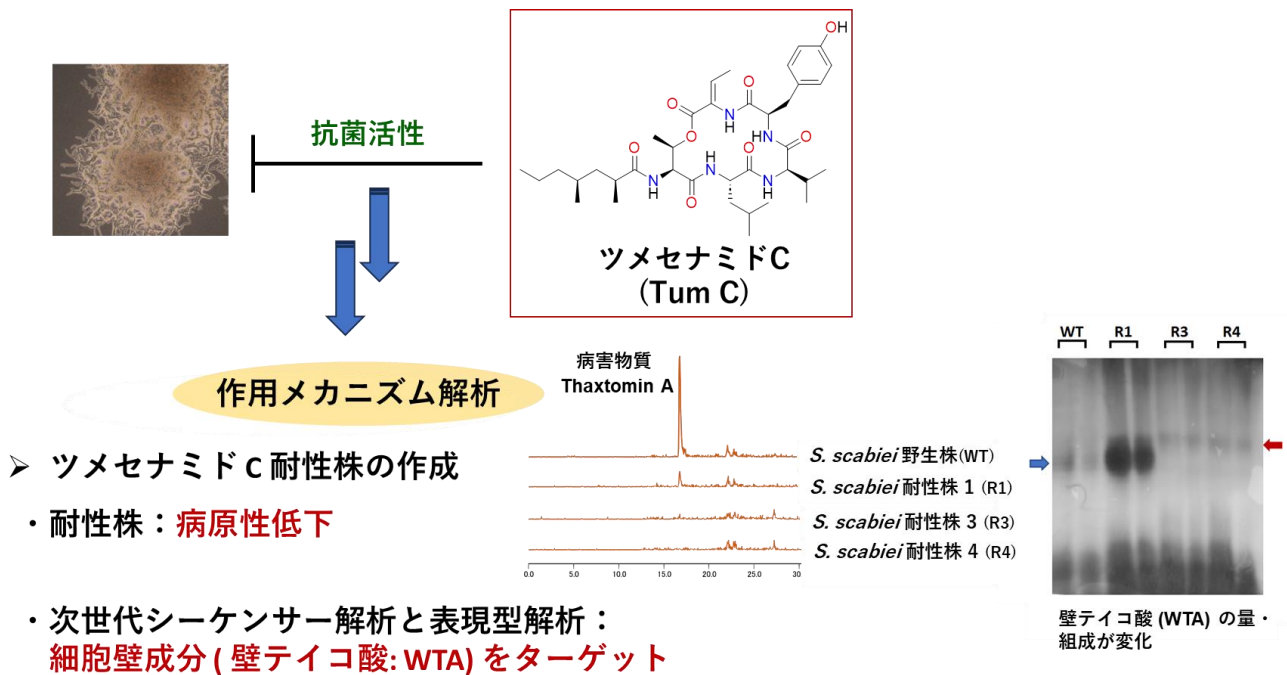
## 概要

掛谷秀昭 京都大学大学院薬学研究科 教授、金子賢介 同特定研究員 (当時)、三枝毬花 同修士課程学生 (当時) らの研究グループは、植物病害そうか病原菌 *Streptomyces scabiei* に対して強い抗菌作用を示す微生物代謝産物ツメセナミド C (Tum C)<sup>1</sup> を見出し、そうか病<sup>2</sup> に対する農薬シーズとしての有望性を明らかにしました。

そうか病は、主として放線菌の一種 *Streptomyces scabiei* によって発症する植物病害です。ジャガイモ、大根、ニンジン、カブなど主要な根菜類の根塊で発症し、病斑によって作物の商品価値を著しく低下させる深刻な植物病害ですが、選択性や安全性に優れた抗菌剤など有効な防除策が少ないといった問題を抱えています。

本研究では、同研究グループによって単離・構造決定、および全合成が達成された天然物 Tum C が、そうか病原菌 *S. scabiei* に対して顕著な抗菌活性を示すことを明らかにしました。また、Tum C 耐性株を作成し、各種表現型解析と次世代シーケンサー解析<sup>3</sup> を行い、その作用因子の一端を明らかにするとともに、Tum C 耐性化が、そうか病の病原性を低下させるというユニークな特性を明らかにしました。これにより、そうか病原菌をターゲットとした新規農薬開発に繋がることが期待されます。

本研究成果は、2024年3月25日午前1:00 (英国時間) に国際学術誌「*The Journal of Antibiotics*」のオンライン版に掲載されました。



## (図の説明)

Tum C が、そうか病原菌 *S. scabiei* に対して顕著な抗菌活性を示すことを明らかにしました。また、Tum C 耐性株を作成し、Tum C が細胞壁成分 (壁テイコ酸: WTA) をターゲットとすること、Tum C 耐性化が *S. scabiei* の病原性を低下させるというユニークな特性を明らかにしました。

## 1. 背景

植物病害そうか病は、主に放線菌 *Streptomyces scabiei* がジャガイモなどの根菜類の根塊に感染することで発症します。そうか病は、根塊にかさぶた状の病斑を形成し、作物の商品価値を著しく低下させます。重症化した作物は廃棄処分するしかなく、廃棄に伴うフードロスは、世界中で甚大な経済損失をもたらしています。そうか病の予防には、原因菌である放線菌類（主として *S. scabiei*）を農地に持ち込まない、増殖させないことが重要です。そのため、土壌の酸性化や燻製、種となる根塊の無菌処理、輪作といった対応策が用いられていますが、これらの方法でそうか病原菌を完全に除去することは難しく、環境への負荷も高いというのが現状です。植物は根圏において、様々な土壌微生物と相互作用しています。これら微生物のなかには、植物病原菌に対して抗菌活性化化合物を産生するなどし、植物の防疫に有用なものも存在します。よって近年、このような根圏環境に着目し、植物の防疫に有利な微生物、もしくは微生物が産生する二次代謝産物を探索し、植物病害の制御をする試みが注目されています。

ツメセナミド C (Tum C) は、掛谷教授らの研究グループによって、放線菌 *Streptomyces* sp. KUSC\_F05 株から単離された環状リポデプシペプチドであり<sup>4</sup>、同研究グループによって全合成も達成された化合物です<sup>5</sup>。Tum C は興味深いことに、放線菌 *Streptomyces* 属に対してのみ抗菌活性を示します。この選択的な抗菌活性から、Tum C はそうか病原菌に対する新規抗菌性農薬シーズになりえると考え、Tum C の *S. scabiei* に対する抗菌活性の評価および、その作用機序の解明に取り組みました。

## 2. 研究手法・成果

はじめに、TumC のそうか病原菌 *S. scabiei* に対する抗菌活性を評価しました。その結果、50%阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) は 1.5 μg/mL であり、顕著な抗菌活性が示されました (図 1)。また、Tum C は、*S. scabiei* の壁テイコ酸 (WTA)<sup>6</sup> と結合することが示されました。次に、より詳細な作用点を解析するために、Tum C に対して耐性を示す耐性株を 5 株作成し (図 1)、最も弱い耐性を示した R1 と強い耐性を示した R3、R4 について、次世代シーケンサー解析を行い、耐性化によって変異した遺伝子の探索を試みました。

興味深いことに、耐性株 3 株に共通する変異遺伝子として、セロビオース/セロトリオース輸送システムの構成要素 (*cebF1*、*cebF2*、*cebG2*) が見出されました。この輸送システムは、そうか病原菌が植物の根塊に接触した際に、植物細胞の壊死とそうか病症状を誘発する毒素 thaxtomin A の産生を誘導するシステムです。実際、耐性株 3 株で thaxtomin A 産生は著しく低下し、それに伴い病原性も減少していました (図 2)。このように、Tum C 耐性化が *S. scabiei* の病原性を減衰させることが見出されましたが、抗菌物質の耐性に関与するような遺伝子について、3 株共通の変異は確認されませんでした。そこで、作用点の異なる既存の抗生物質を用いた交差耐性試験を行いました。

交差耐性試験の結果、耐性株 3 株は細胞壁へ作用するペニシリンに対して、感受性がそれぞれ変化していました。これは、先述した Tum C と WTA の結合能を支持するものでした。実際、Tum C 感受性の *S. scabiei* (野生株: WT) と比べて、耐性株 (R1、R3、R4) では、WTA の産生量と組成に変化が確認されました (図 2)。一方、各耐性株それぞれについて、WTA 生合成に関する遺伝子の変異を探索しましたが、それらに関する明確な遺伝子の変異は確認されませんでした。しかし、これらの結果から、耐性株 3 株は、それぞれ WTA の産生量や組成を変化させることで、Tum C に対する耐性を獲得しており、Tum C の作用点は WTA であるということを強く示唆しています。

本研究成果は、そうか病原菌 *S. scabiei* に顕著な抗菌活性を示す化合物 Tum C を発見し、その作用機序や耐性化に伴う病原性の変化を精査したものであり、そうか病原菌 *S. scabiei* に対する効果的な新規農薬開発に繋がることが期待されます。

### 3. 波及効果、今後の予定

本研究成果は、Tum C の *Streptomyces* 属選択的な抗菌活性をという特徴を活かし、天然物ケミカルバイオロジー研究と次世代シーケンサーによる変異遺伝子探索研究などを組み合わせて得られた研究成果です。Tum C は、そうか病の主要な原因菌 *S. scabiei* に対して顕著な抗菌活性を有していました。興味深いことに、Tum C 耐性化は、そうか病発症において主要な役割を担う毒素 thaxtomin A の産生を大きく減衰させ、そうか病原菌としての病原性も低下させました。薬剤投与の最大のリスクの一つは耐性化ですが、耐性化による病原性の低下は、Tum C の農薬としての有用性を大きく向上させるものです。

さらに、Tum C は細胞壁構成成分 WTA を標的としていることが示唆されました。WTA を標的とした選択性の高さは、今後の Tum C を起点とした新規そうか病原菌阻害剤の設計・創製に有用な知見をもたらし、独創性の高い新規農薬の開発に繋がることが期待されます。また、*S. scabiei* 以外のそうか病原菌についても同様に *Streptomyces* 属であるため、Tum C は、幅広い種の原因菌に対して利用可能であることが強く示唆されます。最後に、Tum C の単離・構造決定、全合成、および本研究の詳細な活性評価は、すべて同一グループで達成されたものです。これらの一貫した研究成果により、世界中で甚大な被害をもたらすそうか病の効果的な農薬開発について、日本がイニシアチブを発揮できるものと期待されます。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、科学研究費助成事業（新学術領域研究(研究領域提案型)「化学コミュニケーションのフロンティア」）、学術変革研究 A 「化学遺伝学評価系に基づく化合物潜在空間の生物活性検証と作用機序解明」、日本医療研究開発機構 生命科学・創薬研究支援基盤事業（BINDS）等の支援を受けて実施されました。

#### <用語解説, 参考文献>

- ※1 ツメセナミド C (Tumescenamamide C: Tum C) : 放線菌 *Streptomyces* sp. KUSC-F05 株が産生する環状リポデプシペプチド。
- ※2 そうか病: ジャガイモなどの根菜類の根塊に発生する植物病害。 *Streptomyces scabiei* といった土壌放線菌により引き起こされ、かさぶた状の病斑を形成し、作物の商品価値を著しく低下させる。
- ※3 次世代シーケンサー解析: 数百万もの DNA 分子について、その配列を同時解析できる手法。
- ※4 Kishimoto, S. et al. Tumescenamamide C, an antimicrobial cyclic lipodepsipeptide from *Streptomyces* sp. *Tetrahedron* (2012), 68, 5572–5578.
- ※5 Takahashi, N. et al. Total synthesis and antimicrobial activity of tumescenamamide C and its derivatives. *J. Org. Chem.* (2020), 85, 4530–4535.
- ※6 壁テイコ酸 (Wall Teichoic Acid: WTA) : 放線菌などグラム陽性菌の細胞壁を構成する成分のひとつ。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル: Tumescenamamide C, a cyclic lipodepsipeptide from *Streptomyces* sp. KUSC\_F05, exerts antimicrobial activity against the scab-forming actinomycete *Streptomyces scabiei* (*Streptomyces* sp. KUSC\_F05 由来の環状リポデプシペプチド・ツメセナミド C は、そうか

病原菌 *Streptomyces scabiei* に対して抗菌活性を示す)

著 者 : Kensuke Kaneko, Marika Mieda, Yulu Jiang, Nobuaki Takahashi, Hideaki Kakeya  
(金子賢介, 三枝穂花, Yulu Jiang, 高橋伸明, 掛谷秀昭)

掲 載 誌 : *The Journal of Antibiotics*. DOI : 10.1038/s41429-024-00716-4

#### 研究者のコメント

この度、当研究室で単離・構造決定、および全合成を達成した微生物代謝産物 Tum C に関して、そうか病原菌 *S. scabiei* に対する抗菌活性を見出し、各種表現型解析と次世代シーケンサー解析を種々検討した結果、細胞壁成分である壁テイコ酸 (WTA) を作用点とする可能性と、Tum C 耐性化がそうか病の病原性を低下させるという想定外の非常に興味深い現象を明らかにしました。本研究成果が、植物病害そうか病の原因菌をターゲットとした革新的な農薬の開発に繋がることを期待しています。

< 参考図表 >

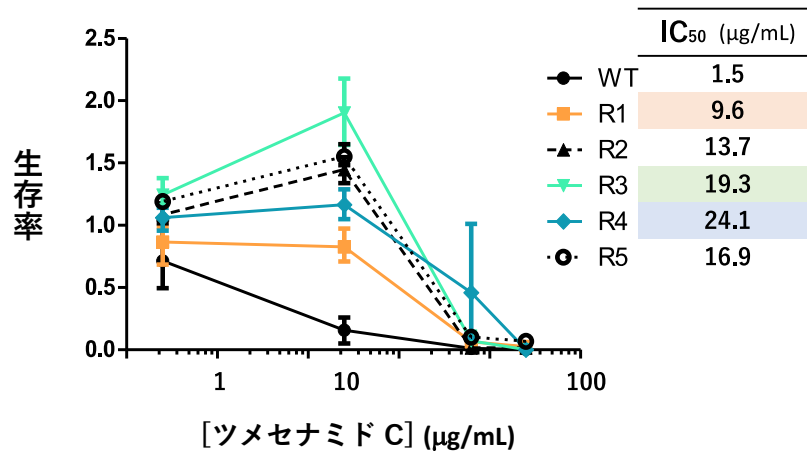


図1. ツメセナミド C (Tum C) の *S. scabiei* に対する抗菌活性評価.

WT は Tum C 感受性の野生株、R1-R5 は WT から作製した Tum C 耐性株を意味します。IC<sub>50</sub> 値が小さい R1 と、大きい R3 と R4 について、次世代シーケンサー解析および各種表現型解析に使用しました。生存率は、溶媒コントロール (メタノール) での生存率を 1.0 としています。

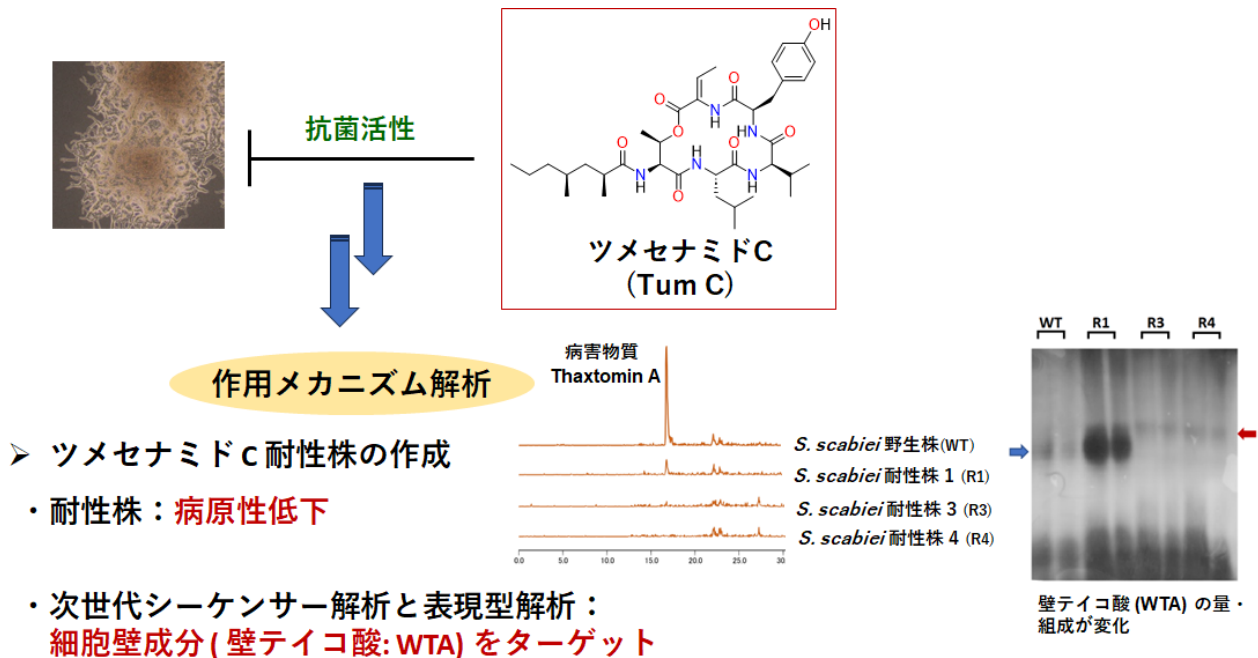


図2. ツメセナミド C (Tum C) の推定作用標的と耐性化によって生じる現象の概要.

Tum C が、そうか病原菌 *S. scabiei* に対して顕著な抗菌活性を示すことを明らかにしました。また、Tum C 耐性株を作成し、Tum C が細胞壁成分 (壁テイコ酸: WTA) をターゲットとすること、Tum C 耐性化が *S. scabiei* の病原性を低下させるというユニークな特性を明らかにしました。