アミノグリコシド抗生物質

— 生合成機作とその周辺 —

能 美 良 作 Ryosaku NOMI

広島大学工学部

抗生物質の中で、アミノ糖を含み主として炭水化物より成る一群のものを、アミノグリコシド (aminoglycoside) 抗生物質と総称し、一般にグラム陽性菌および陰性菌に対して広い抗菌スペクトルを示す。最初に streptomycin が発見されて以来、すでに多数のアミノグリコシド抗生物質が発見され、人工的分子変換も試みられてきた。その結果、streptomycin, kanamycin をはじめ 10 指に余るものが、すでに臨床使用されているか、間もなく使用されると思われる。また、kasugamycin や validamycin のように植物病に使用されるものもある。

この群の抗生物質を、含有する aminocyclitol によって大別してみると、次のようになる。物質名の後に s を付したものは、複数の同族体が存在することを示す。

- 1) Streptidine または bluensidine を含むもの
streptomycins, dihydrostreptomycins, hydroxystreptomycin, *N*-demethylstreptomycin, bluensomycin
- 2) 2-Deoxystreptamine (略記 DOS) を含むもの
 - i) DOS の C-4, C-5 に置換体を持つもの
neomycins, paromomycins, lividomycins, ribostamycin, xylostasin, butirosins
 - ii) DOS の C-4, C-6 に置換体を持つもの
kanamycins, tobramycin, nebramycins, sel-domycins, gentamicins, sisomycin, verdami-

cin

- iii) DOS の C-4 に置換体を持つもの
apramycin,
- iv) DOS の C-5 に置換体を持つもの
destomycins, hygromycin B
- 3) DOS 以外の diaminocyclitol を持つもの
fortimicins, spectinomycins*
- 4) Monoaminocyclitol を持つもの
validamycins*, hygromycin A*, minosaminomycin
- 5) Aminocyclitol を含まないもの
kasugamycin, sorbistins

以上のうち、*印の3つはアミノ糖を含まないが、aminocyclitol を含むので、便宜上加えておいた。

アミノグリコシド抗生物質については、すでにその作用機作^(1,2)、構造と抗菌性との関係⁽³⁾、生合成機作⁽⁴⁾、分子の化学修飾^(5,6)、微生物による分子変換^(4,7)、生産とプラスミドとの関係⁽⁸⁾、耐性菌の耐性機構^(8,9,10)、生産菌の自己耐性機構⁽¹¹⁾、さらに最近報告されたアミノグリコシド抗生物質^(6,7) などについて、すぐれた総説や成書がある。本稿では、上記分類群の中から比較的良好に研究され

図 1 Streptomycin

略語表 SM: streptomycin, STD: streptidine, STO: streptose, SM-P: streptomycin-6-phosphate, NM: neomycin, RM: ribostamycin, DOS: 2-deoxystreptamine, KM: kanamycin, 6'-AG: 6'-amino-6'-deoxy-D-glucose, KAT: kanamycin-6'-N-acetyltransferase, NAKA: 6'-N-acetylkanamycin amidohydrolase

図 2 Neomycin B

てきた streptomycin, neomycin, kanamycin を代表として選び、その生合成機作ならびに関連事項を、最近の資料を加えて解説してみたい。まず、本論に先立ち、上の3つの抗生物質について簡単に記載しておく。

Streptomycin は 1944 年 Waksman らにより発見されたもので、*Streptomyces griseus* が生産する。構造を図 1 に示す。結核の特効薬として有名になった。抗菌作用機作は、細菌リボソームの 30 S サブユニットに結合して蛋白合成を阻害することによる。欠点として、運動失調、難聴などの副作用をひきおこすことがある。streptomycin の分子中 C-3'α の CHO が CH₂OH になったものが dihydrostreptomycin で、streptomycin と同じ抗菌作用を持つ。

Neomycin は同じく Waksman らにより 1949 年に発見され、*Streptomyces fradiae* が生産する。B と C があり、B の構造を図 2 に示す。C は neosamine B (ring IV) の代りに neosamine C (ring II と同じ) が入ったものである。B は C より抗菌力が 2~8 倍ほど強く、市販品の 85~90% を占める。腎毒性が強く、注射では用いられない。

Kanamycin は 1957 年梅沢らによって発見されたもので、*Streptomyces kanamyceticus* が生産する。streptomycin 耐性結核菌に効くので、発見当初特に注目された。A, B, C の 3 種があり、A の構造を図 3 に示す。

図 3 Kanamycin A

B は図中 C-2' の側鎖 OH が NH₂ となったものであり、C は同じく C-2' 側鎖が NH₂ になるとともに C-6' が CH₂OH になったもの (すなわち ring II が D-glucosamine) である。これら 3 つは同じ抗菌スペクトルを示すが、市販品では A が主成分である。B は抗菌力が最も強く、A の約 2 倍であるが、毒性も強い。

生 合 成

アミノグリコシド抗生物質はすべて複数のサブユニットからできており、それらの骨格は、これまで判明している限りではグルコースに由来すると考えられている。

Streptomycin (略記 SM)

SM は図 1 に示すように、streptidine, streptose および N-methyl-L-glucosamine の 3 つのサブユニットからできている。まず、各サブユニットの生合成について述べることにする。

① Streptidine (略記 STD)

STD 部分はグルコースから myo-inositol を経て生成される。グルコースから myo-inositol までの生成機構は、*S. griseus* ではまだ解明されていないが、菌体中 myo-inositol の存在は確認された。myo-inositol から STD に至る経路⁽¹²⁾は、図 4 に要約される。まず、myo-inositol は C-2 (グルコースの C-5 由来) が酸化されて scyllo-inosose になった後、グルタミンよりのアミノ基転移で scyllo-inosamine を生成する。このものは NH₂ 基に対しパラ位で磷酸化された後、アルギニンから NH₂ 基へ transamidation を受けて、N-amidino-scyllo-inosamine-P を生成する (第一の guanido 基完成)。これが脱磷酸後、β位の C (グルコースの C-3 由来) が上記と類似の反応で、酸化、アラニンよりのアミノ基転移、パラ位磷酸化の後、アルギニンからの transamidation で第 2 の guanido 基を完成し、STD-P ができる。また、以上のように、2 つの guanido 基の C はアルギニン由来であり、したがって CO₂ に由来するともいえる。なお、これまでに transamidinase 活性と SM 生産性とは正の相関関係を持つことが示されている。

② Streptose (略記 STO)

Streptose 部分の生成については、初め dTDP-グルコースから dTDP-ラムノースができる経路の中間体 dTDP-4-keto-6-deoxy-L-idose から、分子内転移で

図 4 Streptidine の 生 合 成 経 路

dTDP-STO が派生するという考え方が示された。次いで、 ^{14}C で部分標識したグルコースから生成した STO の標識パターンが調べられ、グルコースの C-1, C-2, C-3, C-6 がそれぞれ STO の C-1', C-2', formyl C-3' α , methyl C-5' に導入されることがわかり^(13,14)、上記の考え方が支持された。この反応経路は、最近 Grisebach ら⁽¹⁵⁾により酵素レベルで究明された(図 5)。それによると、dTDP-グルコースはまず dTDP-4-keto-6-deoxyglucose となり、さらにこの C-3, C-5 のエピ化が起こった後、NADPH を必要とする STO-synthase で C-2 と C-4 が短絡して dTDP-dihydro-STO を生成する。これは、上記の dTDP-STO 生成説と異なるが、グルコースと生成した dihydro-STO の C の相対位置については同じである。さらに、得られた dTDP-dihydro-STO を無細胞抽出液によって streptidine-6-P と反応させたところ、O- α -L-dihydro-STO(1 $\rightarrow$ 4)streptidine-6-P を生成した。この結果、このリン酸化された pseudodisaccharide が、SM 分子の 3 つのサブユニットが組み立てられる際

の最初の間体であろうという。この実験によれば、STO 部分は dihydro-STO としてでき上がるので、生成する抗生物質は当然 dihydro-SM である。ところが、使用菌株は元来 SM 生産菌であるので、dihydro-SM からさらに SM ができなければならない。事実は、発酵の全期間にわたって菌糸内には dihydro-SM だけが見いだされ、培地中には dihydro-SM と SM が共存したという。このため、dihydro-SM は細胞外膜でか、または培地中の exoenzyme によって SM に酸化されるのであろうと説明されたが、これは新説である。

③ N-Methyl-L-glucosamine

N-Methyl-L-glucosamine は L 型であり、かつその C 骨格が D-グルコースに由来することが早くから明らかにされているので、D 型糖がいかにして L 型糖になるかが最も興味をひく点である。この点について種々の提案があったが、 ^{14}C の標識実験^(16,17)によって、D-グルコースの C-1, C-2, C-3,4 および C-6 が N-methyl-L-glucosamine のそれぞれ相当する C になることが示され、

図 5 Streptose の 生 合 成 経 路

結局 D $\rightarrow$ L 転換は multiple epimerization によると考えられるようになった。また、D-グルコースよりも D-グルコサミンのほうが効率よくこの部分にとり込まれるので、D $\rightarrow$ L 転換が D-グルコサミン以降で起こる可能性もある。なお、NH₂ 基に結合した CH₃ 基はメチオニンに由来する。また、培地にメチオニンの代謝拮抗剤であるエチオニンを添加すると、2''-N-demethyl-SM ができる。

以上, SM の 3つのサブユニットについて生合成機作の概略を述べたが, これら 3成分が細胞中どの部分で, いつ, いかなる順序と形で SM に組み立てられるかについては, 上記の Grisebach らによる pseudodisaccharide の形成以外, 具体的知見はない. この点に関し, 以前, 培地のグルコース量または無機磷酸量を増加し, alkaline phosphatase の作用し難い条件下で *S. griseus* を培養すると, STD 部の C-6 が磷酸化された SM-6-phosphate (略記 SM-P) が SM に代わって菌体外に多量蓄積することが報じられた. このことから, SM 分子はまず SM-P の形で完成し, これが菌体外または菌体表面で特異的な alkaline phosphatase により脱磷酸されて SM となる可能性が考えられた. また, STD の C-6 に ^{32}P ラベルした磷酸を結合させた STD- ^{32}P を休止菌体に与えると, そのままとり込まれて SM- ^{32}P が生成, 分泌されるという報告もある. これらのことは, 前述の Grisebach らの報告した磷酸化された pseudodisaccharide ができるという事実と関連あるようにも思える. しかし, *S. griseus* が菌体内に SM の STD 部 C-6 を磷酸化する kinase を持っていることがわかったので, SM の形で完成分泌されたものがもう一度細胞内にとり込まれ, SM-P になって再分泌される可能性も否定できない. SM-P が抗菌性を持たないので, SM-P の生成は生産菌の自己防衛手段であるともいわれる. アミノグリコシド抗生物質が自己生産抗生物質の不活化酵素を持つことは, ribostamycin, butirosin, kanamycin などでも報告されているが, 単に自己防衛のためか, 後述の kanamycin の場合のように生合成に関係あるものか, あるいは膜透過などに必要なのか, 今後の研究が俟たれるところである.

Neomycin (略記 NM)

NM は 4つのサブユニットから成る. NM-B は図 2 に示したように, neosamine C, DOS (2-deoxystreptamine), リボースおよび neosamine B の 4つより成り, NM-C は図 2 の ring IV が neosamine C で入れ替った以外 NM-B と同じである.

NM の生合成は主として Reinhart 一派によって精力的に研究された. まず, これまでに ^{14}C や ^{13}C で標識したグルコースおよびグルコサミンを使用して, NM の 4つのサブユニットへの標識のとり込みが調べられた (図 6). neosamine B と neosamine C はグルコースから

図 6 D-グルコースおよび D-グルコサミンによる neomycin サブユニットの標識

でもグルコサミンからでも C の相対位置はそのままに変換が起こるが, グルコースよりグルコサミンのほうが高率でとり込まれる. したがって, D-グルコースは D-グルコサミンを経て両 neosamine に変換されると考えられるが, 詳細は不明である. これに対し, リボースへの変換はグルコサミンよりグルコースのほうがよい. また, リボースは N を含まないので, グルコサミンからの変換はグルコースを経て行なわれるのであろう. グルコースからリボースへの経路は, pentose 磷酸経路と glucuronate 経路の両者が働いているといわれるが, 前者ではグルコースの C-2~C-6 が, 後者では C-1~C-5 がリボ-

図 7 D-グルコースから 2-deoxystreptamine への生合成経路

ースになる。

DOS へのグルコースのとり込みは、標識実験の結果、図 7 の変換経路が考えられた。すなわち、グルコースが閉環して cyclitol になった後、グルコースの C-5 由来の C が酸化とアミノ化を受け、続いて C-1 由来の C が同様の反応を受けて DOS が完成することになる。この際、2つの NH_2 基の形成順序は逆である可能性も否定できないという。この変換経路は前述の STD の場合に類似しているが、cyclitol として myo-inositol は中間体でないことが示された。また、グルコースの C-6 由来の C の deoxygenation の機構が不明のため、図中 X がどの時点で H になるのか明らかでない。最近、gentamicin の DOS において、図 7 中 II の化合物の X がすでに H であるということが示された^(18,19)。なお、グルコサミンが DOS に転換されるときには N が失われることが、 ^{15}N -グルコサミンを使用して明らかにされた。

次に、NM の各サブユニットがそれ自身生合成中間体になりうるかどうか調べるため、標識したサブユニットが *S. fradiae* に投与された。その結果、 $[1-^{14}\text{C}]$ リボースは該当部分へそのままとり込まれるが、同時にグルコース経由で他のサブユニットへもとり込まれるようである。一方、 $[1-^{14}\text{C}]$ DOS は NM の DOS 部だけにとり込まれた。これに対し $[1-^{14}\text{C}]$ neosamine C は NM の該当部分にとり込まれたという実験もあるが、NM にとり込まれないという結果もあり、Rinehart らによれば後者が正しいらしい。

さて、NM の 4 つのサブユニットが結合する順序についての研究がある。話が少しややこしくなるが、paromomycin という NM に似た抗生物質がある。このものは NM の neosamine C (ring I) の C-6' が NH_2 基を失って $-\text{CH}_2\text{OH}$ になった以外 NM と同じ構造の物質で、その ring I と II を一緒にして paromamine と呼ぶ。*S. rimosus* forma *paromomycinus* によって作られる。Pearce ら⁽²⁰⁾は、この菌株から DOS 部を合成できない変異株を作り、それに ^3H および ^{14}C で標識した neamine (NM の ring I+II) を与えて、NM 生成の有無を検討した。その結果、与えられた neamine は変化することなく、そのままとり込まれて NM ができることが判明した。さらに、この変異株は 6-deoxyneamine (ring I analog) をとり込んで deoxy-NM を作ることはできたが、5-O- β -D-ribofuranosyl-2, 6-dideoxystreptamine (ring II

図 8 Ribostamycin

analog+III) を与えても NM にとり込まなかった。これらの事実から、まず neosamine C (ring II) と DOS (ring I) が結合して neamine を作り、これにリボース (ring III) が結合して ribostamycin ができ、最後に neosamine B (ring IV) が結合して NM が組み立てられると考えた。ここで、リボースが neosamine B とは別に結合すると考えたのは、ribostamycin (図 8) のように NM の ring I+II+III に相当する物質が存在するからであるが、この点はさらに Baud ら⁽²¹⁾の研究によって補われた。すなわち、彼らは NM 生産株の *S. fradiae* から ribostamycin 生産性変異株と、さらにそれからの復帰変異株を育種することに成功し、それらを用いた実験から neosamin B が最後に結合すると主張した。

以上述べたことで少し気になるのは先述の paromomycin 生産株の変異株の代わりに NM 生産性 *S. fradiae* の DOS 欠損変異株を用いると、neamine を与えても NM を作らないことである。しかし、ribostamycin 生産株の DOS 欠損株では neamine をとり込んで ribostamycin を生産する。さらに、最近の butirosin 生産性 *Bacillus circulans* での研究⁽²²⁾では、DOS に結合するのは neosamine C ではなく、まずグルコサミンが結合して paromamine となり、それが C-6' でアミノ化されて neamine となるという。次いで、リボースが結合して ribostamycin となった後、さらに butirosins に変換される経路が提案された。これらの研究結果から、C-6' のアミノ化の時期や酵素の特異性は菌種により異なるのかもしれないが、サブユニットの結合順序はいずれも同じであるように思える。

終りに、NM 生合成の最終段階の生産物は、その phosphoamide か、または phosphate で、それが alkaline phosphatase で脱リン酸されて NM になるだろうという報告もある。

Kanamycin (略記 KM)

KMはすべて3つのサブユニットより成る。KM-Aは図3に示したように、6-amino-6-deoxy-D-glucose (ring II), DOS (ring I) および 3-amino-3-deoxy-D-glucose (ring III) の3つより成り、KM-B, KM-C においては ring II がそれぞれ 2,6-diamino-2,6-dideoxy-D-glucose, D-グルコサミンとなった以外 KM-A と同じである。

標識研究は、KM-A について行なわれた。D-[1-¹⁴C] グルコースを与えると、SM や NM の場合と同様、3つのサブユニットがほぼ同様に標識された。ただし、¹⁴C のとり込み位置は決められていない。とり込み効率は24時間培養後の投与が最もよかった。これに対し、D-[1-¹⁴C] グルコサミンを与えると、添加時期にかかわらず、6'-amino-6'-deoxy-D-glucose (ring II) (略記 6'-AG) だけが標識され、かつ96時間培養後の添加で最高のとり込みを示した。また、とり込み率はグルコース(3.8%) よりグルコサミン(33%) のほうがはるかに高い。これらの事実から、6'-AGはグルコースからグルコサミンを経て合成されるのだらうと考えられた。

次に、標識した KM-A の3つのサブユニットの KM-A へのとり込みが調べられたが、DOS が KM-A の該当部分に特異的にとり込まれただけで、他のサブユニットはとり込まれなかった。

ところで、KM-A の 6'-AG 部の NH₂ 基が acetyl 化されて 6'-N-acetyl-KM-A になると、抗菌力を失うが、このものは KM 耐性 *E. coli* で発見された。このアセチル化酵素を KM-6'-N-acetyltransferase (略記 KAT) という。ところで、KM 生産菌である *S. kanamyceticus* がこの酵素 KAT と、さらに脱アセチル酵素 6'-N-acetyl-KM-amidohydrolase (略記 NAKA) を生産することが発見され、それらが KM 生産に関与している可能性が示された⁽²³⁾。すなわち、生産菌を培養すると、KM の生産に先立って発育期の間に KAT が急速に増加し、かつ減少する(培養24時間で最高)。これに入れ替って NAKA の生産が始まる。KM 生産期の前半では 6'-N-acetyl-KM の増加と KM の蓄積が起こるが、この時期には NAKA も平行して増加する。生産期後半になると 6'-N-acetyl KM の減少とともに NAKA も減少するが、KM 蓄積量は増加を続け、最高値に達する。以上の過程での KAT の働きを解析する実験も行なわれた。その結果、

KAT は ring I+II に相当する pseudodisaccharide である 4-O-(6'-aminoglycosyl) DOS にも活性を示し、その C-6'-N アセチル化が ring III を結合させるための前提条件であると考えられた。

なお、KM-A と ring I+II, すなわち 4-O-(6'-aminoglycosyl) DOS に対する KAT の *in vitro* での活性は、KM-A に対するほうが10倍高い。この事実は、SM の STD 部 C-6 を燐酸化する kinase が、STD より SM に対して高い活性を示すのと類似している。

アミノグリコシド抗生物質の生合成と細胞壁との関係

上述した SM, NM, KM はすべてグルコサミンの類縁体を含み、それらのサブユニットの幾つかがグルコサミン経由で生成する可能性が提示された。他方、グルコサミンは *Streptomyces* の mucopeptide 中にも含まれる。そこで、アミノグリコシド抗生物質と細胞壁とが、D-グルコサミンを共通の前駆体として使用するのではないかと、またもしそうであるなら、当然その間に調節機構があるはずであるという考え方があ

Szabó ら⁽²⁴⁾は、*S. griseus* の SM 非生産性変異株の細胞壁加水分解物中に STD を検出し、さらに菌糸のリゾチーム溶解物中に SM 様物質を見いだした。その結果、SM が細胞壁成分として組み込まれている可能性を考えた。次に、Nimi ら⁽²⁵⁾は、*S. griseus* の洗滌菌体を食塩水に懸濁振盪して SM を生成させる系で、次のような事実を見いだした。すなわち、この系に D-[U-¹⁴C] グルコサミンを与えると、細胞壁へのグルコサミンのとり込みの減少とともに SM へのとり込みが増加する。また、この現象は bacitracin, enduracidin などの抗生物質やフェニルアラニンの添加によって細胞壁合成を阻害させると、より顕著に観察された。このことは、細胞壁合成という一次代謝と SM 合成の二次代謝とが、グルコサミンを共通の前駆体として使用することを示すとともに、SM 生産が定常期になって急増する理由の一つを示しているように思われる。この間の代謝調節機構が今後の問題である。また、この休止菌体実験で、SM にとり込まれたグルコサミンは初期に N-methyl-L-glucosamine 部に多量に分布し、時間とともに STO 部への分布が増加するが、STD 部への分布は少なかった。さらに、休止菌体にグルコースを与えた場合でも、STD 部へのとり込みは少なく、大部分 streptobiosamine 部 (STO+N-

methyl-L-glucosamine)へ入ると報告されており、STDは菌糸中の既存のものが使われるらしい。休止菌体を使用する実験では、サブユニットの供給に不均衡を生じることが欠点であり、また長所でもあるわけで、実験の立案と結果の考察に注意が肝要である。

ところで、細胞壁合成を阻害するとアミノグリコンド抗生物質生産が増加することは、発育培養でも観察された。SM生産では penicillin⁽²⁶⁾が、NM生産では bacitracin⁽²⁶⁾が、KM生産では bacitracin および cycloserine⁽²⁷⁾が、また sagamicin 生産では bacitracin、その他の添加⁽²⁸⁾が、それぞれ増産効果を示したことが報じられている。これらの結果は、細胞壁合成前駆体が条件によって抗生物質生産へ shunt されることを示唆するものであるが、細胞壁合成阻害抗生物質の添加量と添加時期のわずかの違いが結果に大きく影響するように思われる。これは、各サブユニットの供給量、供給時期と生産酵素系のバランスの問題に帰せられるのであろうが、まだわからないことが多すぎる。

微生物変換

すでに NM の項で紹介したが、アミノグリコンド抗生物質のサブユニットのうち、その一つを合成できなくなった変異株を作り、それに合成できないサブユニットの類縁体またはそれを含む物質を与えてとり込ませ、新しい抗生物質を生産させる方法がある。この方法は生合成の研究に種々有用な知見をもたらすのみならず、実用面からも注目されるものである。

まず、NM生産性 *S. fradiae* から DOS 部分の合成能力を喪失した人工変異株が作られた。この株は、培地に DOS を与えると親株同様 NM-B および -C を生産するが、DOS の代わりに streptamine (図 9) を与えると、それを DOS 部にとり込んだ新物質 hybrimycin A₁ およ

び A₂ (それぞれ NM-B および -C に相当) を生成する。また、2-epistreptamine を与えると、同様に hybrimycin B₁ および B₂ を生成する。これら新物質の抗菌力は NM に較べほぼ同等か少し弱い。

Ribostamycin (略記 RM) 生産性 *S. ribosidificus* から同様な欠損株が得られ、それを使用して 1-N-methyl-DOS, streptamine または 2-epistreptamine を DOS 部にとり込ませた RM 類縁体が作られたが、いずれも抗菌力が RM より弱かった。これに対し、3',4'-dideoxy-neamine を与えて生成した 3',4'-dideoxy-RM は、緑膿菌および KM-RM 耐性 *E. coli* にも有効となり、有用性が増した。

ところで、KM生産性 *S. kanamyceticus* から得られた同様の欠損株では、与えられた 1-N-methyl-DOS および 2-epistreptamine はそのままとり込まれたが、同時に DOS の C-4 置換体 (ring II) がグルコースになってしまっ、抗菌力が微弱となった。

S. griseus では SM 生産に STD を要求する変異株が作られ、種々の STD 類縁体が試験されたが、2-deoxy-STD だけが抗生物質を与え、このものは streptomitin A と命名された。

その他、paromomycin⁽²⁹⁾, butirosin^(22,30), gentamicin⁽³¹⁾, sisomicin^(32,33) などでも同様の実験が行なわれ、種々の有用な知見が得られている。

以上のように二次代謝産物の生合成経路上で閉鎖部位を持った変異株を“idiotroph”と呼び、それを使用して新しい代謝産物を生産させることを“mutational biosynthesis”と呼ぶことを Nagaoka & Demain⁽³⁴⁾ が提案している。二次代謝産物のことを“idiolite”という。これに対し Rinehart & Stroshane⁽⁴⁾ は、生産手法を“mutasynthesis”, 生成抗生物質を“mutasynthetics”, とり込まれる物質を“mutasynthons”と呼ぶとしている。なお、アミノグリコンド抗生物質を分子変換して有用性を増す試みは、化学的変換によっても数多くなされており^(3,5,6)、すでに 3',4'-dideoxy-KM-Bや1-N-L(-)-α-hydroxy-γ-amino-butyryl-KM-A(amikacin) のように、臨床使用可能なすぐれたものも作られている。

プラスミドの関与

アミノグリコンド抗生物質は二次代謝産物であるが、その生産にプラスミドが関与するという報告が増えつつ

図 9 2-Deoxystreptamine の類縁体

ある。プラスミドは生産菌を acriflavin や ethidium bromide 処理, また生育限界の高温で培養することによって除去される。したがって, 生合成のどこかにプラスミドが関与していれば, これらの処理により非生産株が得られる。kasugamycin 生産株の *S. kasugaensis* を acriflavin 処理することにより, 54.5% の高率で非生産株が現われ, 高温処理では 5.3% の率で現われた。kasugamycin と aureothricin 両者を生産する株から, それぞれ長さ 15, 3.4, 0.59 μm の 3 種のプラスミドが環状 DNA として抽出され, 15 μm のものが kasugamycin の生産に, 3.4 μm のものが aureothricin の生産に関与していると考えられた⁽⁷⁾。また, *S. griseus*⁽⁷⁾ や *S. biki-niensis*⁽⁸⁵⁾ からも同様に SM 非生産株が得られ, 後者では得られた非生産株が SM 耐性をも喪失していた。Hotta ら⁽⁸⁶⁾ は, *S. kanamyceticus* から acriflavin 処理で KM 非生産株を得, それらは DOS を与えると KM を生産した。しかし, 3-amino-3-deoxy-D-glucose, グルコサミン, myo-inositol を与えても KM を生産しなかった。これに対し, KM 生産に関与するといわれる既述の酵素 KAT と NAKA は保持され, KM 耐性も失われていなかった。これらの結果, DOS 生成酵素がプラスミド制御下にあるらしいと考えられた。

プラスミドについては, 今後ますます研究例が増加すると思われるが, 細胞内でのその数, 生合成への関与部位, 自己耐性との関係, 生産菌の改良など, 興味深い多くの問題が残されている。

文 献

- 1) N. Tanaka : in "Drug Action and Drug Resistance in Bacteria", ed. by S. Mitsuhashi, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, Vol. 2, 1975, p. 125.
- 2) 田中信男 : "抗生物質の作用メカニズム", 東京大学出版会, 1972.
- 3) K. E. Price, J. C. Godfrey & H. Kawaguchi : in "Advances in Applied Microbiology", ed. by D. Perlman, Academic Press, Vol. 18, 1974, p. 191.
- 4) K. L. Rinehart, Jr. & R. M. Stroschane : *J. Antibiotics*, 29, 319 (1976).
- 5) S. Umezawa : in "Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry", ed. by R. S. Tipson and D. Horton, Academic Press, Vol. 30, 1974, p. 111.
- 6) H. Kawaguchi : *Japanese J. Antibiotics*, 30, suppl., 190 (1977).
- 7) T. Nara : in "Annual Reports on Fermentation Processes", ed. by D. Perlman and G. T. Tsao, Academic Press, Vol. 1, 1977, p. 299.
- 8) 岡西昌則 : 発酵と工業, 34, 435 (1976) ; *Amino Acid•Nucleic Acid*, No. 35, 15 (1977).

- 9) H. Umezawa : in "Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry", ed. by R. S. Tipson and D. Horton, Academic Press, Vol. 30, 1974, p. 183.
- 10) H. Umezawa : in "Drug Action and Drug Resistance in Bacteria", ed. by S. Mitsuhashi, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, Vol. 2, 1975, p. 211.
- 11) 堀田国元, 岡見吉郎 : 発酵と工業, 34, 488 (1976).
- 12) M. S. Walker & J. B. Walker : *J. Biol. Chem.*, 246, 7034 (1971).
- 13) D. J. Candy, N. L. Blumsom & J. Baddiley : *Biochem. J.*, 91, 31 (1964) ; 96, 526 (1965).
- 14) J. Bruton & W. H. Horner : *J. Biol. Chem.*, 241, 3142 (1966).
- 15) R. Ortman, U. Matern & H. Grisebach : *Eur. J. Biochem.*, 43, 265 (1974) ; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 64, 1041 (1975) ; *FEBS Letters*, 49, 317 (1975) ; 65, 44 (1976).
- 16) M. Silverman & S. V. Rieder : *J. Biol. Chem.*, 235, 1251 (1960).
- 17) J. Bruton, W. H. Horner & G. A. Russ : *J. Biol. Chem.*, 242, 813 (1967).
- 18) Y. Chen & J. B. Walker : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 77, 688 (1977).
- 19) S. J. Daum, D. Rosi & W. A. Goss : *J. Antibiotics*, 30, 98 (1977).
- 20) C. J. Pearce, J. E. G. Barnett, C. Anthony & M. Akhtar : *Biochem. J.*, 159, 601 (1976) ; *J. Antibiotics*, 31, 74 (1978).
- 21) H. Baud, A. Betencourt, M. Peyre & L. Penasse : *J. Antibiotics*, 30, 720 (1977).
- 22) K. Takeda, K. Aihara, T. Furumai & Y. Ito : *J. Antibiotics*, 31, 247, 250 (1978).
- 23) A. Satoh, H. Ogawa & Y. Satomura : *Agric. Biol. Chem.*, 39, 1593, 2331 (1975) ; 40, 191 (1976).
- 24) G. Szabó, Gy. Barabás, T. Vályi-Nagy & Zs. Magyar : *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 12, 109 (1965) ; 15, 97 (1968).
- 25) O. Nimi, A. Kokan, K. Manabe, K. Maehara & R. Nomi : *J. Ferment. Technol.*, 54, 587 (1976) ; *Agric. Biol. Chem.*, 35, 1819 (1971).
- 26) Gy. Barabás & G. Szabó : *Antimicrob. Agents Chemother.*, 11, 392 (1977) ; *Actinomycetes and Related Organisms*, 12, 28 (1977).
- 27) K. Basak & S. K. Majumdar : *Folia Microbiol.*, 21, 43 (1976).
- 28) 中山 清 : *Amino Acid•Nucleic Acid*, No. 36, 1 (1977).
- 29) W. H. Shier, S. Ogawa, M. Hichens & K. L. Rinehart, Jr. : *J. Antibiotics*, 26, 551 (1973) ; *Biochemistry*, 13, 5073 (1974).
- 30) H. D. Taylor & H. Schmitz : *J. Antibiotics*, 29, 532 (1976).
- 31) D. Rosi, W. A. Goss & S. J. Daum : *J. Antibiotics*, 30, 88, 98 (1977).
- 32) R. T. Testa, G. H. Wagman, P. J. L. Daniel & M. J. Weinstein : *J. Antibiotics*, 27, 917 (1974).
- 33) J. A. Waitz, G. H. Miller, E. Moss, Jr. & P. J. S. Chiu : *Antimicrob. Agents Chemother.*, 13, 41 (1978).
- 34) K. Nagaoka & A. L. Demain : *J. Antibiotics*, 28, 627 (1975).
- 35) P. D. Shaw & J. Piwowarski : *J. Antibiotics*, 30, 404 (1977).
- 36) K. Hotta, Y. Okami & H. Umezawa : *J. Antibiotics*, 30, 1146 (1977).