

# 豊かなLife(生)実現のための、 環境微生物由来の二次代謝産物(化合物) の活用に関する研究

家政学部 環境教育学科 藤森文啓 / 家政学部 環境教育学科 池田壽文

## 背景および目的

日本は菌類の多様性が非常に高い。当研究室では日本国内で分離された糸状菌・担子菌を約 17000 株使用できる。各種の培養条件を変化させることで生成される化合物のバリエーションを増やすことが可能である。さらに、植物や食品、微生物などの水生生物、陸生生物が作り出す二次代謝物(化合物)は、ヒトの生(Life)と深く関わる薬・農薬・化成品などへ応用可能であり、未知生物が作り出す化合物は様々な応用が期待できるものである。そこで、本研究提案では、高齢化に伴い生じる様々な病気や、美容、健康に資する新規化合物を探索することで、より良いヒトの生(Life)の構築を目指すことを目的とする。

## 方法

初年度は、これまでに構築された 46267 サンプル超の培養抽出液を用いた、抗菌、抗カビ、ヒト培養細胞等の生育阻害試験データ、および毒性チェックデータを得ているが、本研究ではまず初めに、これらの抽出液サンプルの UV 励起による蛍光測定を実施した。サンプルは 96 穴プレートに 20 菌株の 4 培地による培養抽出液が合計 80 サンプル存在し、

そのようなプレートが合計 500 枚超存在する。これらすべてに短波長 UV を照射し、蛍光スポットを色調別、強度別に評価した。

## 結果

46267 の培養抽出液中、UV 励起により蛍光を有するサンプルは 1545 存在した (3.3%)。このサンプルのうち蛍光強度が 3+ で赤色 =5, オレンジ =12, 黄色 =8, 黄緑 =45, 緑 =3, 水色 =30, 青 =10 のサンプルを確認することができた。また、用いた微生物のうち、真核生物である *Candida albicans* (分裂酵母) と *Kluyveromyces fragilis* (酵母) に対して抗真菌活性を有し、*Micrococcus luteus* (グラム陽性菌) や *Micrococcus luteus* (グラム陽性菌) または *Escherichia coli* (グラム陰性菌) や *Comamonas terrigena* (グラム陰性菌) に対しては細胞死活性を示さず、ヒト培養細胞に対しても毒性および細胞死活性がないものを選択した結果 24 株の抽出液が抗菌活性物質を有し蛍光を有することが判明した。

## 考察

初年度は抽出物ライブラリーの中で蛍光を指標としたデータを取得した一つの理由に、その後の精製プロセスを簡易に行うことを想定してのことである。当然、ヒト癌細胞でのアポトーシス亢進活性物や免疫抑制活性剤、各種生体酵素阻害剤などの活性物探索において無色透明化合物も対象ではあるが、構造解析を最短で行うための一つの指標として本年度は蛍光データの取得を行った。次年度は各種アッセイを構築し、そのフィージビリティスタディーを実施することで、特許性化合物取得を目指したい。

## 今後の展望

微生物天然物化学は菌や放線菌などが生産する二次代謝産物(化合物)を、医薬品や農薬、化成品などに応用する研究である。古くから微生物のダイバーシティーを広げてサンプリングし、化合物のパラエティーを確保することが求められている。しかしながら同じ微生物を違う培地で生育させると生産される代謝物構造に違いや生産性に違いが生ずることから、多数の培養方法で代謝物をサンプリングすることでダイバーシティーに対応してきた歴史がある。最近では、異なる微生物で共培養を行うことや、薬剤処理などにより最終産物のパラエティーを確保する研究、遺伝子改変により生合成経路を変化させることでパラエティー確保をする研究も盛んである。

さて、菌類に感染するウイルスはこれまで 5~10% 程度と考えられていた。当研究室では糸状菌類に感染する新規ウイルス探索も行っているが、これまでの知見とは異なり 70% 以上の菌類に何らかのウイルスが重複感染していることを見出している。ウイルスは感染により病徴を呈するものや、一見して表現形質になんら影響のないものもあるが、宿主主体内での生合成経路にどのような影響を与えているのかについて詳細に解析した例は少ない。微生物二次代謝産物のパラエティー確保が、各種ア

ッセイから新規化合物を発見できるためには、より多くのメタボライトがパラエティーをもって生産されなければならない。本研究では既にある抽出液ライブラリーから、癌抑制物質やアポトーシス誘導物質、各種酵素阻害剤、抗菌・抗カビ物質を得ることを目標としているが、ライブラリーのもつポテンシャルを高めることも重要な研究である。そこで、各種アッセイとは別に、ウイルス感染している糸状菌のウイルスフリー株の作出を行い、感染株と非感染株との代謝物に違いが出るのかを、メタボローム解析により検証することも必要と考えている。

壮年期には様々な病気に加え、若さを保つ仕組みの解明、健康に生きるための知恵など様々な解決しなければならないことがあるが、本研究では微生物由来の低分子化合物により貢献できる成果をあげることが目標に、2 年目はフィージビリティスタディーを広範囲に行うことで結果を出せるように努力したい。

## 微生物(カビ・キノコ)

