

混合培養系において誘導される放線菌の抗生物質生産

五十嵐 康弘

(富山県立大学工学部生物工学科)

研究の目的

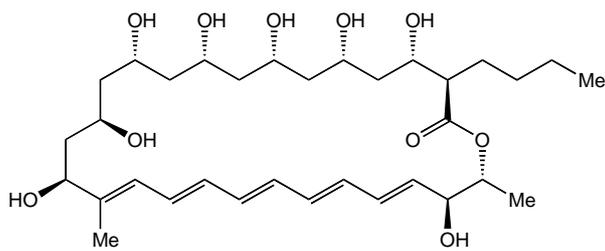
Robert Koch により確立された純粋培養の概念は、現代微生物学の根幹をなすものである。一部の共生微生物を除いて、あらゆる微生物は学術研究においても、産業上の利用においても純粋培養されるのが常識であり、コンタミネーションは避けなければならない。放線菌は多様な生理活性物質を生産する能力を有し、医農薬として実用化された物質も少なくない。その利用においてもやはり自然界から分離した菌株の純粋培養が基本となる。ところが我々の研究室で放線菌 *Streptomyces lividans* を用いた実験中に、その培養プレートに混入した細菌が周辺の *S. lividans* の赤色色素産生を誘導することが偶然に発見された。我々はその細菌が放線菌の二次代謝産物生産の誘導に利用できるのではないかと考え、本研究に着手した。

方法

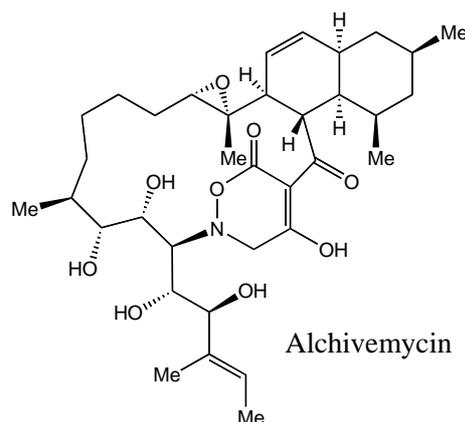
放線菌との混合培養に使用した細菌は、*S. lividans*の培養プレートにコンタミネーションしていた。本菌はグラム陽性桿菌であり、16s rDNA解析により *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 と同定された。*T. pulmonis*との混合培養には、当研究室で土壌や植物から分離した *Streptomyces*属放線菌を使用した。シード培養と生産培養にはV-22培地とA-3M培地を使用し、30°Cで回転振盪培養した (200 rpm)¹⁾。

結果

放線菌と *T. pulmonis* TP-B0596 との混合培養は次のようにして行われた。V-22培地で、放線菌は4日間、*T. pulmonis*は1日間シード培養し、次いでA-3M培地に放線菌を3% (v/v)、*T. pulmonis*を0.3% (v/v)シード培養から植菌し、6日間振盪培養した。培養液を等量の1-ブタノールで抽出し、有機層を濃縮乾固し、抗菌活性試験に供した。また、放線菌を純粋培養した培養液の抽出物も調製し、抗菌試験に供した。その結果、純粋培養では見られない抗菌活性が、混合培養で見られるようになったものが、供試放線菌122株のうち8株認められた。HPLC分析においても、それら8株の培養液抽出物には純粋培養では見られなかった二次代謝産物のピークが検出された。そこで、混合培養により生産が誘導された、抗菌性を示す二次代謝産物を単離し、構造を解析した。その結果、*S. albobrisesolus* S430 ではAntibiotic A33853、*S. panayensis* TT1712 ではaclinomycinが生産誘導されていた。また、*S. sp.* TP-A0625では新規ポリエン抗生物質TPU-0043²⁾、*S. sp.* S522では全く新規な骨格を有する抗生物質alchivemycin³⁾の生産が誘導されることが分かった。



Antibiotic TPU-0043



Alchivemycin

結論

Streptomyces 属放線菌をグラム陽性細菌 *T. pulmonis* と混合培養することにより、純粋培養では生産されない二次代謝産物が生産誘導されるという非常に興味深い結果が得られた。混合培養系で生産誘導された二次代謝産物には既知化合物も含まれていたが、放線菌 122 株から 2 種類の新規化合物を見出すことが出来た。そのうちの一つ TPU-0043 はペンタエンマクロライド chainin もしくは isochainin の立体異性体と推定されるものであったが、もう一つの化合物 alchivemycin は前例のない特異な環構造を有していることが X 線結晶解析により示された。このように、従来の常識に反する混合培養すなわち“非純粋培養”により、放線菌の潜在的な二次代謝が誘導されたことは特筆すべきである。

近年、放線菌からの新規化合物発見頻度が低下し、医農薬ソースとしての魅力が疑問視されている⁴⁾。しかし、本研究が示すように機能していない遺伝子の発現誘導が可能になれば、新規生理活性物質探索の新しい局面が開かれるであろう。ちなみに *T. pulmonis* 以外の細菌、例えば *Bacillus subtilis*、*Escherichia coli* 等では二次代謝産物生産は誘導されない。また、稀少放線菌との混合培養は十分に検討がなされておらず、誘導メカニズムの解明を含めた更なる研究を進めている。

文献

1. Sasaki, T., Igarashi, Y., Saito, N. and Furumai, T. 2001. Cedarmycin A and B, new antimicrobial antibiotics from *Streptomyces* sp. TP-A0456. *J. Antibiot.* **54**: 567-572.
2. Igarashi, Y., In, Y., Ishida, T., Fujita, T., Yamakawa, T., Onaka, H. and Furumai, T. 2005. Absolute configuration of TPU-0043, a pentaene macrolide from *Streptomyces* sp. *J. Antibiot.* **58**: 523-525.
3. Igarashi, Y., Ishida, T., In, Y., Kan, Y., Fujita, T., Azumi, M., Yoahida, R. and Furumai, T. 2005. Structure determination of microbial secondary metabolites with unusual cyclic structures. Book of Abstracts of 9th International Conference of the Chemistry of Antibiotics and other Bioactive Compounds. (Archachon, France)
4. Berdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiot.* **58**: 1-26.