

1. メンブランフィルター法による海洋深層水からの微生物分離と有用物質の探索

○五十嵐康弘・古米保・沖俊一

(富山県立大)

1. はじめに

抗生物質をはじめとする多様な医薬品が微生物、特に放線菌と糸状菌の培養生産により実用化されてきた。しかし長年にわたる徹底的な医薬探索の結果、陸生微生物からの新規化合物の発見が困難となり、海洋微生物が注目されるようになった。医薬探索源としては、カイメンなど無脊椎動物から分離される海洋微生物が特に注視されてきたが、低温かつ清浄と言われる海洋深層水中の微生物については、我々が研究を始めた1996年当時には全く知見がなく、深層水からの医薬生産微生物の探索は全く新しい試みであった。

清浄な、すなわち微生物数が少ない深層水から微生物を効率的に回収する手法として、メンブランフィルター法がある。この方法では孔径

0.20 mのフィルターにより深層水をろ過し、フィルターに捕捉された微生物を分離することができる。本研究では、メンブランフィルター法による富山湾海洋深層水からの放線菌分離と、分離株における新規生理活性物質生産の可能性を探ることとした。

2. 方法

富山県滑川取水施設にて水深333 mから取水された富山湾海洋深層水、並びに滑川沖合にて船舶により水深700 mから採水した深層水をその後の実験に付した。採水した深層水は速やかに無菌室にて無菌条件で、アドバンテック製セルロースメンブランフィルター(孔径0.20 m)を用いて、減圧下、吸引ろ過した。ろ過後のフィルターは、放線菌分離培地に載せて培養した。二週間後にフィルターをはがし、その

ままさらに二週間培養し、生育したコロニーを釣菌し、純粋な分離株を得た。このとき、フィルター上の微生物のうち放線菌の菌糸のみが、0.20

0 mの孔を通過するため、放線菌を選択的に分離することができる。次いで、分離株を3種類の生産用液体培地で培養し、培養液を有機溶媒により抽出した。抽出液は濃縮乾固し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により生産物を解析した。また抽出液を抗菌試験と癌細胞増殖阻害試験に供した。

3. 結果及び考察

1995年に採取した水深333 mの深層水10 Lからは38株の放線菌が分離され、培養性状から*Streptomyces*属14株、*Micromonospora*属24株と同定された。一方で、2004年に採取した水深700 mの深層水10 Lからは、8株が分離され*Streptomyces*属6株、*Micromonospora*属2株であった。その後も、水深700 mの深層水からは継続的な分離を行い、10 Lから平均5~7株の放線菌が分離された。次いで、分離株の培養液から有用物質の生産探索を行い、抗癌活性物質や抗生物質など10種の新規生理活性物質を見出すことに成功した。

本発表では、1996年から二十余年にわたり富山県立大学微生物工学研究室で行われてきた富山湾深層水からの有用微生物探索研究の概要を紹介したい¹⁾。
¹⁾ Y. Igarashi, Antitumor compounds from actinomycetes in deep-sea water of Toyama Bay, Handbook of Anticancer Drugs from Marine Origin, pp. 367-382, Springer (2016)