

2. 富山湾海洋深層水からの放線菌分離と有用物質生産能の解析：第二報

○金木紗恵¹、荻野景子¹、春成円十朗¹、竹内啓晃²、梁太熙³、今田千秋³、五十嵐康弘¹

(¹ 富山県立大、² 国際医療福祉大、³ 東京海洋大)

1. はじめに

我々は約 20 年前から、富山県水産試験場および滑川沖合洋上で海洋深層水を採水し、数十リットル規模でメンブランフィルター濾過法によって放線菌分離を行い、抗がん活性や抗菌活性をもつ有用物質の探索を進めてきた。しかし、分離された生産菌は必ずしも深層水や海洋に固有の種ではなく、富山湾海洋深層水の特徴を示すことができなかった。その理由として、数十リットル規模のメンブランフィルター濾過法では深層水中の希少放線菌を集めることは不十分であったと考えられる。昨年度、入善町取水施設にて揚水された深層水約 600,000 L を通水した繊維フィルターからの放線菌分離の結果について報告した。¹⁾単離した放線菌 138 株のうち、解析が終了した株の多くが *Streptomyces* 属であったが、従来用いていたメンブランフィルター濾過法で得られた放線菌とは生産物質が明らかに異なっていた。本研究では、富山県入善町取水施設のフィルターに捕集された放線菌を従来法とは異なる方法で分離し、有用物質生産微生物の探索を検討した。

2. 方法

2016 年 11 月に富山県入善町取水施設（水深 384 m）より入手したフィルターから、138 株の放線菌を分離した。分離株の分子系統解析は、細菌用ユニバーサルプライマーを用いて 16S rRNA 遺伝子領域を増幅し、属レベルでの同定を行った。生産物確認のため、はじめに分離株を 4 日間前培養し、次に本培養として 3 種類の

生産用液体培地にて 6 日間培養した。培養液は等量の 1-ブタノールにより抽出・濃縮乾固した後に DMSO で溶解した試料を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で解析した。HPLC ピークの UV スペクトルを研究室で構築した既知化合物のスペクトルデータベースと照合し、生産物の新規性を判定した。また、83 株のブタノール抽出物において、抗がん活性試験と薬剤耐性菌に対する抗菌試験を行った。

3. 結果及び考察

2016 年 11 月に入手したフィルターから、選択分離培地で総計 138 株の放線菌を分離した。これまでに 62 株の系統解析が完了し、*Streptomyces* 属は 43 株、*Micromonospora* 属は 18 株、*Actinonadura* 属は 1 株と同定された。また、二次代謝産物生産の解析が完了した 52 株のうち 39 株に物質生産が確認され、そのうち 22 株が UV スペクトルデータベースに存在しない未知物質を生産していた。さらに、抗がん・抗菌活性試験の結果、放線菌 29 株が陽性対照よりも高い活性を示し、6 株が顕著な抗 MRSA 活性を示した。抗 MRSA 活性を示した放線菌のうち、HPLC の UV スペクトル解析により新規性の予想された 4 株について活性成分の特定を進めている。本発表では、未解析株の系統解析と二次代謝産物解析の結果、ならびに抗 MRSA 物質を含む新規化合物探索の経過を報告する。

¹⁾荻野・五十嵐ら(2017)第 21 回海洋深層水利用学会全国大会要旨集, p16.