

9. 伊豆赤沢海洋深層水から分離した抗癌物質生産放線菌の諸性状について

○今田千秋¹・梁 太熙¹、山田勝久²、寺原 猛¹・小林武志¹

(¹東京海洋大、²株ディーエイチシー)

【目的】

海洋深層水 (DSW) の微生物は低温、高水圧、低有機物濃度の極限環境に適応していることから、他の環境では見られない特異な微生物が生息していることは明らかであり^{1,2)}、このような微生物は特異な代謝系を用いて新規生理活性物質を生産している可能性が考えられる。そこで、放線菌に着目して伊豆赤沢 DSW から新規抗癌物質を生産する放線菌が分離されたことを昨年度本学会大会などで報告した³⁾。本研究ではその生産菌の分類学的性状について報告する。

【方法】

伊豆赤沢 DSW の懸濁物の濾過に用いる使用済みのバッグ状フィルター (孔径約 0.5 μ m) を入手し(2015年10月30日および12月28日)、フィルターの底部を無菌的に 3cm 画に切り取った。これを滅菌 DSW で適宜希釈した後、その希釈液 0.1ml を放線菌の分離に汎用されている ISP-No.4 培地および HV 寒天培地に塗抹して 27 $^{\circ}$ C において 4 週間静置培養した。培養後に生じたコロニーの中から肉眼で放線菌と判断されたコロニーを釣菌して分離株とした。次にこれらの菌株の培養液を遠心分離して得られる上清について、B16 マウスメラノーマ細胞に添加して癌細胞に対する毒性を、またヒト皮膚由来線維芽細胞に添加して正常細胞に対する毒性をそれぞれ調べた。なお細胞毒性の程度は、MTT 還元法⁴⁾ による細胞生存率より求めた。本試験の結果、癌細胞特異的に毒性を示した菌株について 16S rRNA 遺伝子解析による種の同定を行うとともに、本菌株の近縁種の標準株 (いずれも陸上由来) を入手して生理・生化学的性状を比較した。

【結果および考察】

伊豆赤沢 DSW より 131 株の放線菌を得た。これらすべての菌株について癌細胞及び正常細胞に対する毒性を調べた結果、7 株の有望株が得られた。なお本研究では安定した抗癌活性が見られた菌株 (AKA32 株と命名) を選択し、以後の実験を行った。常法により 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を解析した結果、放線菌 *Nonomuraea indica* DRQ-2^T と 99.1% (1,371/1,383 bp)、*N. asiatica* A299^T と 97.83% (1,404/1,435 bp) および *N. muscovyensis* FMN03^T と 98.35% (1,372/1,395 bp) の相同性を示した。また、本菌株とその標準株の生理・生化学的性状は類似していたが、本菌株は標準株には全く見られない抗癌活性や抗菌活性を有していること、またアミノ酸や炭水化物の利用性についても標準株との間でいくつかの相違が見られることがわかった (表 1)。

本研究における分子生物学的および生理・生化学的解析の結果から、本菌株は新種の放線菌である可能性が示唆されたため、今後さらに検討を進める必要があると考えている。

表1. AKA32株とその近縁種の標準菌株の性状

特徴	AKA32株	<i>N. indica</i> DRQ2 ^T	<i>N. asiatica</i> A299 ^T	<i>N. muscovyensis</i> FMN03 ^T
抗癌活性	++	-	+	-
抗菌活性	11.6**	-	-	-
生育pH域	6-9	6-9	6-9	7
生育温度	10-45	10-45	10-45	15-38
NaCl耐性	3	3	3	1
炭水化物の利用				
L-アラビノース	+	-	+	-
D-フラクトース	+	-	+	-
アミノ酸の利用				
L-バリン	+	-	-	-
L-チロシン	+	+	-	-
L-アラニン	-	+	-	-

*+: 陽性, -: 陰性
**阻止径 (mm)

【参考文献】

- 1) 矢田ら, (2003). 海深研, 4, 47-56.
- 2) Terahara et al., (2016). Gene, 576, 696-700.
- 3) Yang et al., (2019). J. of Antibiot., 72, 202-209.
- 4) 山田ら, (2007). 粧技誌, 41, 254-261.