

*Sphingomonas* sp. GF9 株の異種バクテリアに対する増殖因子の単離・構造解析  
 応用生物科学専攻 生命分子化学講座 木質生命化学 高井 亮吾

1. はじめに

現在, 90%以上の種が実験室条件において純粋培養が不可能な難培養微生物とされており<sup>1)</sup>, 難培養微生物の培養技術確立は, 微生物の資源化を拡張するための重要な課題となっている。難培養微生物には, 異種微生物間の相互作用によって増殖可能となる種が存在し<sup>2)</sup>, それらの相互作用を媒介する物質を特定することは, 難培養微生物の培養法確立に新たな知見を提供するものと考えられる。活性汚泥から分離された ASTN45 株は, 共に発見された *Sphingomonas* 属 GF9 株が生産する増殖因子によって増殖が促進される。我々は GF9 株が ASTN45 株に対して供給する増殖因子の単離, 構造解析を行った。

2. 方法

GF9 株が ASTN45 株に対して供給する増殖因子は NPB 培地において培養される GF9 株培養上清に含まれており, その含有量はごく微量であることが示唆された。そこで, GF9 株培養上清の大量取得が必要であると考え, GF9 株培養条件検討および 100 L スケールでの培養を試みた。GF9 株培養条件検討の結果を参考にして, 100 L 容のジャーファメンターを用いて, 大量培養を行った。得られた GF9 株培養液に対して, *n*-ブタノール抽出, メタノールによる可溶部と不溶部の分離, 各種カラムクロマトグラフィーを用いて増殖活性画分の分画を行った (図)。さらに得られた活性画分に対して質量分析を行った。

3. 結果と考察

GF9 株培養条件検討, 大量培養を行い, 従来よりも高い活性をもつ 270 L の GF9 株培養上清を得た。得られた培養上清に対して抽出操作および各種クロマトグラフィーを用いて ASTN45 株に対する増殖因子の分画を行い, 最終的に得られた 40 mg の画分に対して質量分析による構造解析を行った所, 活性画分には分子量 160 および 234 の化合物が含まれていることがわかった。

4. まとめ

GF9 株が生産する ASTN45 株に対する増殖因子の単離, 構造解析を目的として GF9 株の大量培養を行い 270 L の培養液を得た。得られた培養液から精製を行い, 40 mg の活性画分を得た。質量分析により活性画分には分子量 160 および 243 の化合物が含まれていることがわかったが, 増殖因子の単離には至らなかった。今後, さらなる精製を行い ASTN45 株への増殖因子の単離を目指す。

【参考文献】 1) Amann. R. I. *et al.*, *Microbiol Rev.* **59**, 143-146 (1995)  
 2) Epstein. S. S. *et al.*, *Nature*, **457**, 1083 (2009)

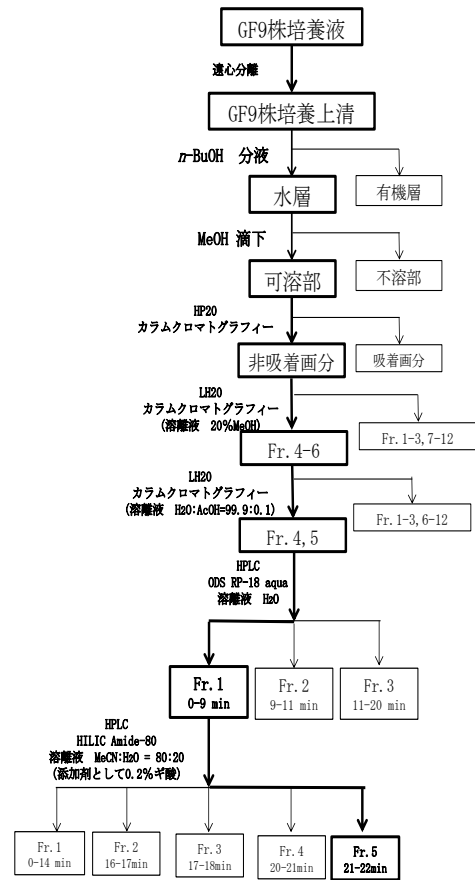


図. GF9 株培養液から ASTN45 株増殖因子精製