

異種プロテオバクテリア間で機能する *cell-to-cell* シグナル化合物の探索, 単離構造決定 ~特に *Burkholderia plantarii* トロポロン生合成亢進因子について~

応用生物学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 能崎 薫

1. 背景と目的

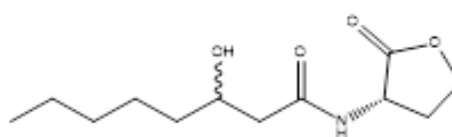
本研究では, *Burkholderia plantarii* を病原菌とするイネ苗立枯細菌病に対する病徴発現抑制資材の探索を主たる目的に, ポットやゲルベッドでの感染イネ苗病徴発現抑制試験を長らく行ってきたが, スクリーニングにかけた菌株の中には目的とする病徴発現抑制ではなく, 逆に病徴を亢進させる菌株をしばしば見出していた。そのうちの 하나가 *Sphingobium yanoikuyae* EC-S001 株であり, *B. plantarii* と共接種した際に病徴が激発性になることが分かった。また, *S. yanoikuyae* の単独接種ではイネ苗にいかなる病徴も示されないことから, *S. yanoikuyae* は *B. plantarii* の病徴を亢進する (トロポロンの産生量を上昇させる) シグナル因子を産生しているのではないかと考えた。本研究では, この *S. yanoikuyae* EC-S001 株が産生する *B. plantarii* の病徴促進因子 (=トロポロン産生亢進因子) の探索を主たる目的とした。また, 病徴亢進因子として分離した *N*-(3)-hydroxyoctanoyl-L-homoserine lactone の天然物とジアステレオミクスチャー合成品との活性比較を行うと共に, トロポロン産生亢進技術の農業への応用についても考察した。

2. 方法

S. yanoikuyae を 0.5% ショ糖を炭素源, 0.05% 酵母エキス粉末を窒素源とした液体 MW (modified Winogradsky's) 培地で 25°C, 7 日間培養し, 培養液上清をそのまま酢酸エチル抽出した。有機層転溶部を終濃度 0.1 mM Fe₂(SO₄)₃ 添加 *B. plantarii* 菌体混ぜ込み MWG 平板培地 (ジェランガム濃度 0.5%) でペーパーディスクアッセイに供したところ, 三日目に培養液 2 mL 相当の抽出物をチャージしたペーパーディスク周辺で, トロポロン鉄錯体の黒色粒状結晶が多数析出することを確認した。この強力なトロポロン産生亢進活性物質本体を順相カラムクロマトグラフィーや分取 HPLC で追跡した結果, この化合物が *N*-(3)-hydroxyoctanoyl-homoserine lactone であることを突き止めた。また, L-methionine を出発物質とした *N*-(*R/S*)-3-hydroxyoctanoyl-L-homoserine lactone の合成を試み, 得られたジアステレオマー等量混合物での tropolone 生成亢進活性を評価した。

3. 結果

合成した *N*-(*R/S*)-3-hydroxyoctanoyl-L-homoserine lactone 混合物をアセトンに溶解し, *B. plantarii* 菌体混ぜ込み MWG 平板培地でペーパーディスクアッセイに供したところ, 1 ng/disc で *S. yanoikuyae* 三日培養後ゲル片が示すトロポロン産生亢進活性を超える強力な活性を確認することができた。また, *B. plantarii* 菌体混ぜ込み MWG 平板培地に終濃度 1 mg/L で本合成品を添加し, 9 日間培養したところ, 非添加区に比ベトロポロン産生量が 7 倍近く上昇したことが分かった。



N-(*R/S*)-3-hydroxyoctanoyl-L-homoserine lactone