

ラマン分光解析を用いた放線菌コロニーの産生する生理活性物質の *in situ* スクリーニング手法の開発

○諏訪駿之介^{1,2}, 安藤正浩³, 中島琢自³, 堀井俊平^{1,2}, 松本厚子³, 穴井豊昭⁴, 竹山春子^{1,2,3,5} (早大院・先進理工¹, 産総研・早大 CBB0-01L², 早大ナノ・ライフ創新研³, 九大院・農⁴, 早大・先進生命動態研⁵)

Development of an *in situ* colony screening method to detect bioactive substances produced by actinomycete using Raman spectroscopy. (Graduate school of Advanced Science and Engineering, Waseda University¹, Waseda University Computational Bio Big-Data Open Innovation Laboratory², Research organization for Nano and Life Innovation³, Graduate school of Agriculture, Kyushu University⁴, Institute for Advanced Research of Biosystem Dynamics, Waseda Research Institute for Science and Engineering, Waseda University⁵)
SUWA, Shunnosuke^{1,2}; ANDO, Masahiro³; NAKASHIMA, Takuji³; HORII, Shunpei^{1,2}; MATSUMOTO, Atsuko³; ANAI, Toyooki⁴; TAKEYAMA, Haruko^{1,2,3,5};

放線菌の産生する多様な生理活性物質は医薬品として数多く活用されており、新規物質のスクリーニングは創薬研究の発展のため重要である⁽¹⁾。しかし、スクリーニングは大量培養と手間のかかる分離、精製を必要とすることから、一度にスクリーニングできる菌株数は少なく、新規物質のヒット率も低い。一株のスクリーニングに要する時間を短縮することが網羅的なスクリーニングの実現、新規物質発見の加速のために必要である。

本研究では対象分子を直接、非破壊で測定できるラマン分光法を用いて、寒天培地上の放線菌コロニーから迅速に二次代謝産物の産生を評価できる技術の開発を目指した。

モデル系として、4種類の放線菌を寒天培養しコロニーを形成させた。コロニーをスライドガラスにかき取り、顕微ラマン分光測定で株ごとのラマンスペクトルを取得した。その後、得られたラマンスペクトルから MCR-ALS⁽²⁾解析によって、生体分子のスペクトルを抽出しスペクトルライブラリーを構築した。次に、菌株特異的な二次代謝産物の産生がみられた放線菌株の寒天培地上コロニーの直接測定を試みた。そして、得られたスペクトルに対して、事前に作成したスペクトルライブラリーを利用したスペクトル情報解析を行い、コロニーレベルで二次代謝産物の産生を評価した。

ライブラリーの構築では一般的な生体分子に加え、actinorhodin や prodigiosin 等の二次代謝産物スペクトルが得られた。そして、単一コロニーのラマン測定では測定条件の検討の結果、最短3分でのコロニーのスペクトル測定に成功した。また、スペクトル解析を通してコロニーの二次代謝産物の産生の評価に成功した(Fig. 1)。

寒天上のコロニーを直接測定し、二次代謝産物の産生を *in situ* で測定が可能になったことから、新しい二次代謝産物スクリーニング技術としての展開が可能となった。今後は、微生物の対象を広げ、技術の汎用性を評価する計画である。

本研究は内閣府ムーンショット型農

林水産研究開発事業 (JPJ009237、管理法人:生研支援センター) によって実施されました。

1) Atanasov, A.G., Zotchev, S.B., Dirsch, V.M. et al., Nat Rev Drug Discov 20, 200-216 (2021).

2) Ando and Hamaguchi, J. Biomed. Opt. 19(1), 011016 (9 October 2013).

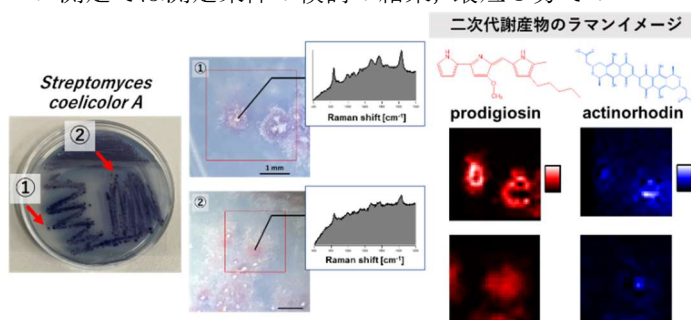


Fig. 1 放線菌コロニーのラマン測定と二次代謝産物イメージング