

海洋性 *Brevibacterium* 由来ジケトピペラジンの同定と生物活性評価

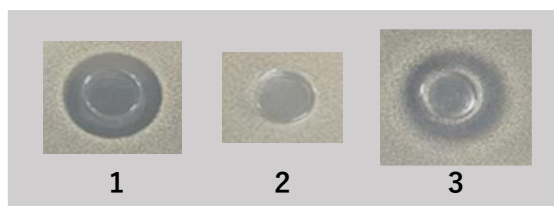
○今岡宙・谷口祐一・知名秀泰・長谷川慎（長浜バイオ大バイオサイエンス）

**Identification and bioactivity evaluation of diketopiperazines from marine *Brevibacterium* sp.** (Graduate School of Biosciences, Nagahama Institute of Bio-Science and Technology) Imaoka, Sora; Taniguchi, Yuichi; China, Hideyasu; Hasegawa, Makoto

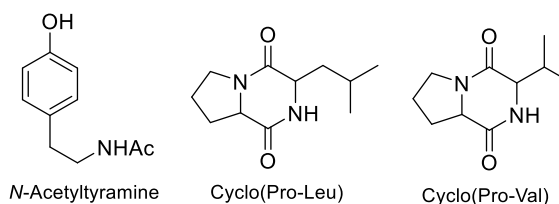
**目的：**海洋生物資源の中には医薬品として有用な物質を生産する生物が存在しており、抗がん剤や抗生物質をはじめとする様々な生物活性に対するリード化合物が多く見ついている。海綿やホヤなどの高等生物由来の海洋天然化合物が主に注目されるが、海洋性細菌も生物活性資源の宝庫であり、海の生態系維持の観点においても海洋性細菌は重要な位置づけにある。海洋性細菌は深海や熱噴出孔などの極限環境下に生存する他、ありふれた魚類の生体内などを含め様々な環境下に存在している。大阪明星高校・生物部に所属する高校生によりキダイ（レンコダイ）の腸から分離された抗菌活性を有する海洋性細菌を対象に、本研究ではその細菌種の同定、抗菌成分の精製と構造解析および生物活性評価を行った。

**方法：**キダイの腸に生存する細菌を Zobell 寒天培地で培養しシングルコロニーを得ると共に、次世代シーケンス解析により全ゲノム解析を行い、その細菌の種を決定した。一方、その細菌から生じる抗菌物質は、酸性条件下で抽出し、オープンカラムを用いたシリカゲルクロマトグラフィーおよび RP-HPLC により単離した。抗菌活性を持つ画分は、表皮ブドウ球菌の生育阻止円形成により確認した (Fig. 1)。構造解析は、MS および NMR により行った。単離された生成物の各種異性体および誘導体は化学合成し、各種細菌を用いた生育阻止および生育促進の生物活性試験を行った。

**結果：**抗菌活性を有した細菌は、全ゲノム解析により *Brevibacterium linens* またはその近縁種であることが示された。また培養上清液からは、抗菌活性を示す成分として *N*-アセチルチラミン、cyclo(Pro-Val)を含むジケトピペラジンが単離された (Fig. 2)。ただし、抗菌活性を有する cyclo(Pro-Val)においては不斉炭素の絶対配置が不明なため、それぞれの DL 体を組み合わせ、合計 4 種の光学異性体を合成し、それらの抗菌活性を比較した。これらを用いて各種細菌への生育の影響を検討した結果、*Microbacterium oxydans* NBRC 110206、*Micrococcus luteus* NBRC 13867 および *E.coli* DH5 $\alpha$  に対しては生育阻害効果を示した。他の細菌から分離されたジケトピペラジンには、抗菌活性を示すもの幾つか知られている<sup>2)</sup>。興味深いことに、これら立体異性体の合成物の中に *Brevibacterium* それ自身に対しては生育促進効果を示すものが見られた。他の細菌種でクオラムセンシングを担う自己誘導因子の候補としてジケトピペラジンが知られていることから<sup>3)</sup>、特定の立体配置を持つ cyclo(Pro-Val)が *Brevibacterium* の自己誘導因子として働く可能性について現在検討を進めている。



**Fig. 1** Antibacterial activity test by growth inhibition circle formation of *Staphylococcus epidermidis*. (1) Positive control (0.1 mg/mL Ampicillin). (2) Negative control (PBS buffer containing MeOH). (3) Purified sample in PBS buffer containing MeOH.



**Fig. 2** Isolated marine natural products from *Brevibacterium* sp.

- 1) 中崎宏哉、化学と生物 **2023**, 61, 98.
- 2) Y. Wang et al., *Front. Microbiol.* **2019**, 10, 135.
- 3) F. Fdhila et al., *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 1299.