

## 出芽酵母に対する低重合度ポリ(ε-L-リシン)の抗真菌作用機構の解析

(滋賀県大工<sup>1</sup>・京大院農<sup>2</sup>) ○竹原 宗範<sup>1</sup>・谷村 雨音<sup>1</sup>・田中 航輝<sup>1</sup>・新本 晶<sup>1</sup>・井上 善晴<sup>2</sup>

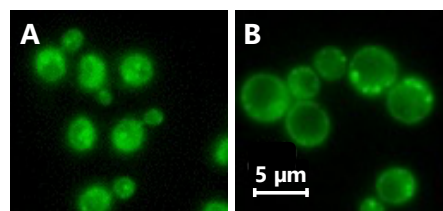
Investigation on Mechanism of Antifungal Activity of Short Chain Length Poly(ε-L-lysine) against *Saccharomyces cerevisiae* (<sup>1</sup>*School of Engineering, The University of Shiga Prefecture*, <sup>2</sup>*Graduate School of Agriculture, Kyoto University*) ○ Munenori Takehara,<sup>1</sup> Amane Tanimura,<sup>1</sup> Koki Tanaka,<sup>1</sup> Akira Aramoto,<sup>1</sup> Yoshiharu Inoue<sup>2</sup>

Poly(ε-L-lysine) (ε-PL), produced by some strains of *Streptomyces* spp., is a cationic polypeptide with a broad antimicrobial spectrum. ε-PL with short chain length (S-ε-PL) shows higher antifungal activity against *Saccharomyces cerevisiae* compared to medium chain length ε-PL (M-ε-PL). In this study, we investigated the mechanism of the antifungal activity of S-ε-PL. Circular dichroism analysis suggested that S-ε-PL, like M-ε-PL, could form a β-sheet type secondary structure. S-ε-PL showed higher antifungal activity in SD medium and M-ε-PL in phosphate buffer. Both ε-PLs exhibited antifungal activity without plasma membrane disruption of the yeast cells. S-ε-PL was shown to have relatively higher cell membrane permeability. Mutant strains deleted in different elements of the cell wall integrity pathway were more resistant to S-ε-PL.

**Keywords :** Poly(ε-L-lysine); Cationic Polypeptide; Antimicrobial Activity; Circular Dichroism; Cell Wall Integrity Pathway

*Streptomyces* 属放線菌が生産するポリ(ε-L-リシン) (ε-PL) は、幅広い抗菌スペクトルを示すカチオン性ポリペプチドである。低重合度 ε-PL (S-ε-PL,  $n = 5-20$ ) は、中重合度体 (M-ε-PL,  $n = 22-36$ ) と比較して、*Saccharomyces cerevisiae* に対して高い抗菌性を示す<sup>1)</sup>。本研究では、S-ε-PL の *Sc. cerevisiae* に対する抗真菌作用機構を解析した。

円二色性スペクトル解析より、いずれの ε-PL も主に β-シート構造からなり (50–65%)、S-ε-PL では β-ターンの占める割合が高くなった (>10%)。SD 培地中では S-ε-PL が、リン酸緩衝液中では M-ε-PL がより高い抗菌性を示した。蛍光色素を用いた観察より、いずれの ε-PL も細胞膜への細孔形成や膜破壊を引起こさないことがわかった。S-ε-PL は細胞膜の透過性がより高いことが示された (Fig. 1)。 *Sc. cerevisiae* における細胞壁の完全性の維持に関わる (CWI) 経路を構成する遺伝子の欠損株 (*mpk1Δ*, *rlm1Δ*, *chs3Δ*, *cnc1Δ*, *swi6Δ*) のほうが、S-ε-PL に対してより耐性を示した。



**Fig. 1.** *Sc. cerevisiae* cells exposed to dansyl-labeled S-ε-PL in (A) SD medium and (B) phosphate buffer.

1) High-yield production of short chain length poly(ε-L-lysine) consisting of 5–20 residues by *Streptomyces aureofaciens*, and its antimicrobial activity. M. Takehara, A. Hibino, M. Saimura, H. Hirohara, *Biotechnol. Lett.* **2010**, *32*, 1299.