

新規生理活性物質生産株の超ハイスループットスクリーニングプラットフォーム構築

研究者所属・職名：理工学術院・教授

ふりがな たけやま はるこ

氏名：竹山 春子

主な採択課題：

- [挑戦的萌芽研究「生理活性物質のin vivoハイスループットスクリーニングシステムの構築」\(2014-2015\)](#)
- [基盤研究\(B\)「単一細胞内DNA分子数の新規デジタルカウンティング手法の開発」\(2012-2014\)](#)

分野：生物機能・バイオプロセス

キーワード：シングルセル解析/ラマン分光 / データベース / 生理活性物質 / シングルセルゲノム解析 / 難培養微生物

課題

●なぜこの研究をおこなったのか？（研究の背景・目的）

創薬リード化合物の資源として多くの微生物が探索され、現在までに20000種以上の生理活性物質が発見されている。しかし、最近では新規物質の獲得が難しくなってきた。従来の生理活性物質探索では、解析のために微生物の単離培養が試みられてきたが、未だ多くの微生物は難培養であり、その特性には多くの謎が残されている。そこで、新たな創薬リード化合物の獲得や生産に繋げるために、多様な微生物から生理活性物質の生産者を効率よく探索し、ハイスループットに生理活性物質の検出と代謝遺伝子群の取得を可能にする新たな解析プラットフォームが求められており、本研究で挑戦することとした。

●研究するにあたっての苦労や工夫（研究の手法）

本研究では、微生物内における二次代謝産物を検出し、さらに全ゲノム情報をシングルセルレベルで取得する技術開発を行っている。2つの目的を可能にするシングルセル解析プラットフォーム構築には様々なアイデアと挑戦がある。二次代謝産物の検出・同定には非侵襲に物質の分子構造が解析可能な顕微ラマン分光法を用い（図1）、シングルセルゲノム解析には、 μm サイズの微小な液滴（ドロプレット）を反応場とシステムを構築した。そして、未知物質同定のためのラマンスペクトラムデータベース構築も進めている。これらの技術を組み合わせたシングルセル解析プラットフォームによって環境中の未知微生物から生理活性物質生産株をスクリーニングし、複合的な資源情報の獲得を進めている。

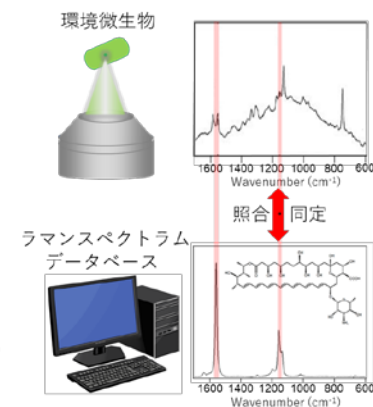
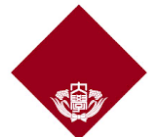


図1 顕微ラマン分光法を用いた生理活性物質のin vivo検出



新規生理活性物質生産株の超ハイスループットスクリーニングプラットフォーム構築

研究成果

● どんな成果がでたか？どんな発見があったか？

1) 微生物二次代謝産物のラマンスペクトラムデータベース(DB)の構築

本年度までに、350種類の化合物の計測を行うとともに、ウェブベースで試験運用DBへのデータ拡充を行い、スペクトル同定システムの初期版を構築した。次に、実際に真菌・放線菌のラマン分光計測を行った後、DB内の代謝産物スペクトルを参照して解析を行うことで、複雑な微生物のスペクトルから二次代謝産物由来のシグナル情報を抽出し、菌体内で二次代謝産物の局在を可視化することに成功した。さらに、DBを活用することで、構造の類似する誘導体についても分別して同定ができる可能性を見出した。

2) シングルセルゲノム解析を組み合わせた有用物質を産生する環境微生物の同定

カイメン共生細菌をドロップレット内に封入し、シングルセル由来のラマンスペクトルの取得を行った。得られたデータとDB内の標準スペクトルを比較することで、菌体内で産生された生理活性物質が推定された。さらに、ドロップレット内の細菌に対してシングルセルゲノム解析を実施した結果、ラマンスペクトルから予想される生理活性物質の合成遺伝子の存在が確認された(図2)。また、多様な対象にシングルセルゲノム解析手法を展開した。特に、腸内細菌解析においては、シングルセルメタゲノム解析が、今までわからなかったホスト間での多様性をより詳細に示すことを見出した。今後、新しい解析手法のスタンダードになる可能性が示唆された。

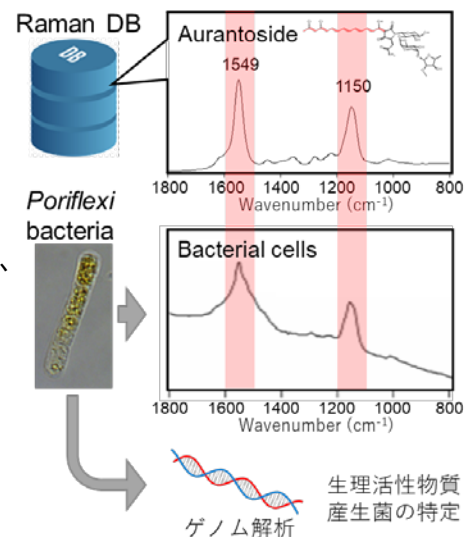


図2 海綿共生微生物における生理活性物質の検出

今後の展望

二次代謝産物ラマンスペクトラムDBのさらなる拡充を行うとともに、DB検索システムのバージョンアップを行うことでより正確なスペクトル同定を可能とする独自のシステムを構築する。

また、ドロップレットを用いたハイスループットシングルセルゲノム解析とラマン分光解析を組み合わせることによって、生理活性物質生産株の超ハイスループットスクリーニング化を目指す(図3)。その一環として、高速な微生物ラマン測定に向けた新規デバイスのデザインを行う。さらに、ドロップレット内での微生物培養にも取り組み、生理活性物質生産株のスクリーニングを加速化させる。

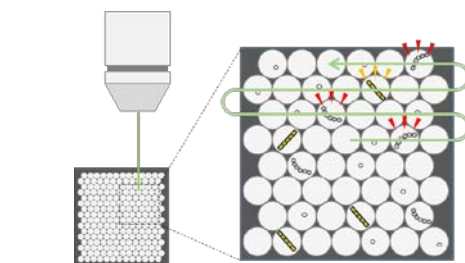


図3 ハイスループットスクリーニングモデル