

28pmA-156S

海綿由来メタゲノムライブラリを用いた機能発現遺伝子の探索

○竹重 勇哉¹, 江上 蓉子¹, 脇本 敏幸¹, 阿部 郁朗¹(¹東大院薬)

【目的】メタゲノム解析は実験室環境下では培養困難な微生物に対する有用な解析手法の1つとして近年、注目されている。しかし膨大なメタゲノムライブラリを簡便にスクリーニングする手法は限られており、寒天培地に適用可能な抗菌活性試験が最も主要なスクリーニング系として用いられてきた。そこで、今回、我々は海綿より構築したメタゲノムライブラリを用いて、抗菌活性以外のスクリーニング系として抗酸化活性および細胞毒性を指標とした活性試験法を適用し、陽性クローンの探索を行った。

【方法】式根島産海綿 *Discodarmia calyx* を採取した後 eDNA を抽出し、平均鎖長 40 kbp の DNA を精製した後に Fosmid ベクターを作製した。大腸菌を宿主として形質転換を行い、約 250,000 cfu のメタゲノムライブラリを構築した。得られたライブラリに対して、*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, MSSA に対する抗菌活性試験、および 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) を用いた抗酸化活性試験を行った。また強力な細胞毒性物質である calyculin A に対して細胞毒性減弱活性を示すクローンを P388 マウス白血球細胞を用いた細胞毒性試験によって探索した。これらの活性試験において陽性を示したクローンは遺伝子配列を解析するとともに、液体培地にて大量培養後、活性を担う化合物の探索を行った。

【結果】構築したメタゲノムライブラリより、3種の異なるスクリーニング系、それぞれにおいて陽性クローンを取得した。得られた陽性クローンについてインサートの遺伝子配列解析、活性化合物の単離・同定、生合成機構の検討の結果について報告する。