

顕微ラマン多変量スペクトル分解法を用いた生物活性物質 penicillin 及び avermectin の菌体内検出

(1. 早稲田大学、2. 産総研 CBBDOIL、3. 早大 ナノ・ライフ創新研、4. 早大先進生命動態研) ○堀井俊平^{1,2}、安藤 正浩³、中島 琢自¹、Ashok Samuel³、高橋 洋子¹、竹山 春子^{1,2,3,4}

In situ Detection of Penicillin and Avermectin in Microbes by Raman Microspectroscopy and Multivariate Analysis (1. The Univ. of Waseda, 2. CBBDOIL, AIST-Waseda Univ., 3. Res. Org. Nano Life Innov., Waseda Univ., 4. Inst. Adv. Res. Biosyst. Dynam., Waseda Res. Inst. Sci. Eng., Waseda Univ.) ○Shumpei Horii^{1,2}, Masahiro Ando³, Nakashima Takuji¹, Ashok Zachariah Samuel³, Yoko Takahashi¹, Haruko Takeyama^{1,2,3,4}

In this study, we report the application of Raman microspectroscopy to *in situ* detection of bioactive compounds. Raman spectroscopy provides characteristic information on the molecular structure of metabolites and does not require any sample pretreatment such as dye labeling or genetic manipulation, thus allowing for rapid and low-invasive observations. Moreover, for the spectral analysis, we used multivariate curve resolution-alternating least squares (MCR-ALS) method which can extract meaningful “pure” spectral components from the overlapped and complicated spectra arising from several molecular compositions. By using MCR-ALS analysis, the Raman spectrum of bioactive compounds can be distinguished from other cellular components and the accumulation was visualized.

Keywords : Raman microspectroscopy; MCR-ALS; Secondary metabolites; Screening

環境微生物が産生する二次代謝産物は多様な生物活性を示すため、医薬品をはじめ幅広い分野で利用されている。しかし、現行の二次代謝産物の生産能評価は、培養・分離精製などの煩雑な工程を含み、微生物内の二次代謝産物を直接検出する手法はない。そこで、本研究では、非標識・低侵襲に物質の分子構造を明らかにできる顕微ラマン分光法を用いて、微生物内で産生される二次代謝産物の *in situ* 検出を行い、生体内物質の生産能評価と菌体内分布の可視化を試みた。Penicillin の生産菌である糸状菌 *Penicillium chrysogenum* NBRC-4626 及び avermectin の生産菌である放線菌 *Streptomyces avermectinius* MA4680^T を研究対象とし、培養後の各菌体のラマンスペクトル測定を行った。スペクトル解析手法として多変量スペクトル分解法(MCR-ALS)を用い、複雑な生体由来のラマンスペクトルから単一の生体成分に由来するスペクトル成分及び各成分の強度分布情報の抽出を行った。MCR-ALS 解析の結果、複雑なマッピングデータから各生体成分及び二次代謝産物に由来するラマンスペクトルをそれぞれ抽出することができ、penicillin および avermectin の菌体内検出及び局在の可視化に成功した。また、*S. avermectinius* MA-4680^T を寒天培養した際に生じる形態変化における avermectin の生体内動態を経日的にモニタリングしたところ、avermectin が孢子鎖に局在することが明らかとなった。以上より、本手法が、微生物内の二次代謝産物の産生を迅速に評価できるだけでなく、二次代謝産物の菌体内分布情報から生物学的に新たな知見を得ることを示した。