

## 研究成果報告書

研究テーマ (和文)	病原性微生物の侵略進化に学ぶ新規免疫抑制剤の創成		
研究テーマ (英文)	Creation of new immunosuppressants learned from the invasive evolution of pathogenic microorganisms		
研究期間	2019年～2021年	研究機関名 慶應義塾大学	
研究代表者	氏名	(漢字)	荒井 緑
		(カタカナ)	アライ ミドリ
		(英文)	Midori A. Arai
	所属機関・職名		慶應義塾大学理工学部・教授
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字～800字程度にまとめてください。)

【目的】放線菌や真菌は、多くの有用な化合物を提供してきた。しかしながらその遺伝子は2割程度しか働いておらず、新たな新規天然物を生産するであろう生合成遺伝子が眠ったままの休眠遺伝子であることがわかっている。我々は近年、病原放線菌と動物細胞の共培養法を開発し、休眠遺伝子活性化に成功している。この新規手法は、病原微生物が動物に感染する際の状況を再現し、疑似感染状態を模倣したものである。本研究では、本共培養法を病原真菌にも応用し、新たな共培養特異的化合物を見だし、その生産機構に迫ることを目的とした。

【結果】病原放線菌 *Nocardia tenerifensis* とマウスマクロファージ J774.1 の共培養により生産される nocarjamide の生産機構の解明に向け種々検討し、nocarjamide の産生には *N. tenerifensis* とマウスマクロファージ J774.1 の物理的接触は必要ないことが明らかとなり、*N. tenerifensis* は、マクロファージの出す比較的大きいタンパク質に反応している可能性があるかと推定した。

病原真菌 *Aspergillus fumigatus* 株とマウスマクロファージ様細胞 RAW264 の共培養を行い、共培養特異的に産生されるフェノール性化合物 1 を単離・構造決定した。アゾール耐性を持たない *A. fumigatus* 株で同様に共培養を行ったが、共培養特有ピークは見出されなかったことから、感染に有利なアゾール耐性株特有の化合物生産と予想した。また、RNA-seq.により、fumarylalanine の生合成クラスター SidE が共培養特異的に発現が上昇することを見いだした。*A. fumigatus* とマウスマクロファージ様細胞 RAW264 との共培養で、fumarylalanine の生合成が上昇し、化合物 1 は、fumarylalanine を用いて生合成されたと推測した。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Isolation of Nocobactin NAs as Notch Signal Inhibitors from <i>Nocardia farcinica</i> , a possibility of invasive evolution				
	著者名	Arai, M. A.; Ebihara, I.; Makita, Y.; Hara, Y.; Yaguchi, T.; Ishibashi, M.	雑誌名	<i>J. Antibiot.</i>		
	ページ	255~259	発行年	2 0 2 1	巻号	74
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	~	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	~	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Recently, we have developed the microorganism-animal cells co-incubation method. Pathogenic microorganisms such as *Nocardia* and *Aspergillus* species might have “stress” by immune cells when they infected animals. Pathogenic microorganisms might be supposed to “activate” cryptic DNA and “produce” new natural products which have bioactivity for survival from immune system. Also, such abilities might be the result of “invasive evolution”.

Various studies were conducted to elucidate the production mechanism of nocarjamide produced by co-culture of pathogenic actinomycete *Nocardia tenerifensis* and mouse macrophage J774.1, and physical contact between *N. tenerifensis* and mouse macrophage J774.1 was not necessary for the production of nocarjamide. It was speculated that *N. tenerifensis* may be responding to a relatively large protein produced by macrophages.

The pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus* strain and mouse macrophage-like cell RAW264 were co-cultured, and phenolic compound **1** produced specifically for co-culture was isolated and structurally determined. We also found that expression of fumarylalanine biosynthetic cluster SidE was increased in a co-culture-specific manner. Co-culture of *A. fumigatus* and mouse macrophage-like cell RAW264 increased the biosynthesis of fumarylalanine, and it was speculated that compound **1** was biosynthesized using fumarylalanine.