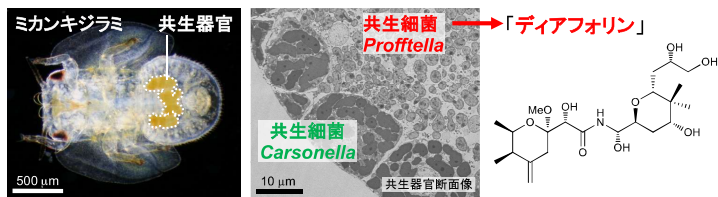


# 新規二次代謝物ディアフォリンは細菌増殖にどう作用するか - 促進・抑制を含む作用スペクトル解析 -

伊豆 尚<sup>1</sup>, 〇内田 尚大<sup>1</sup>, 高須 麗奈<sup>1</sup>, 中鉢 淳<sup>1,2</sup> (豊橋技科大 応用化学・生命工学系、<sup>2</sup>豊橋技科大 先端農業・バイオリサーチセンター)

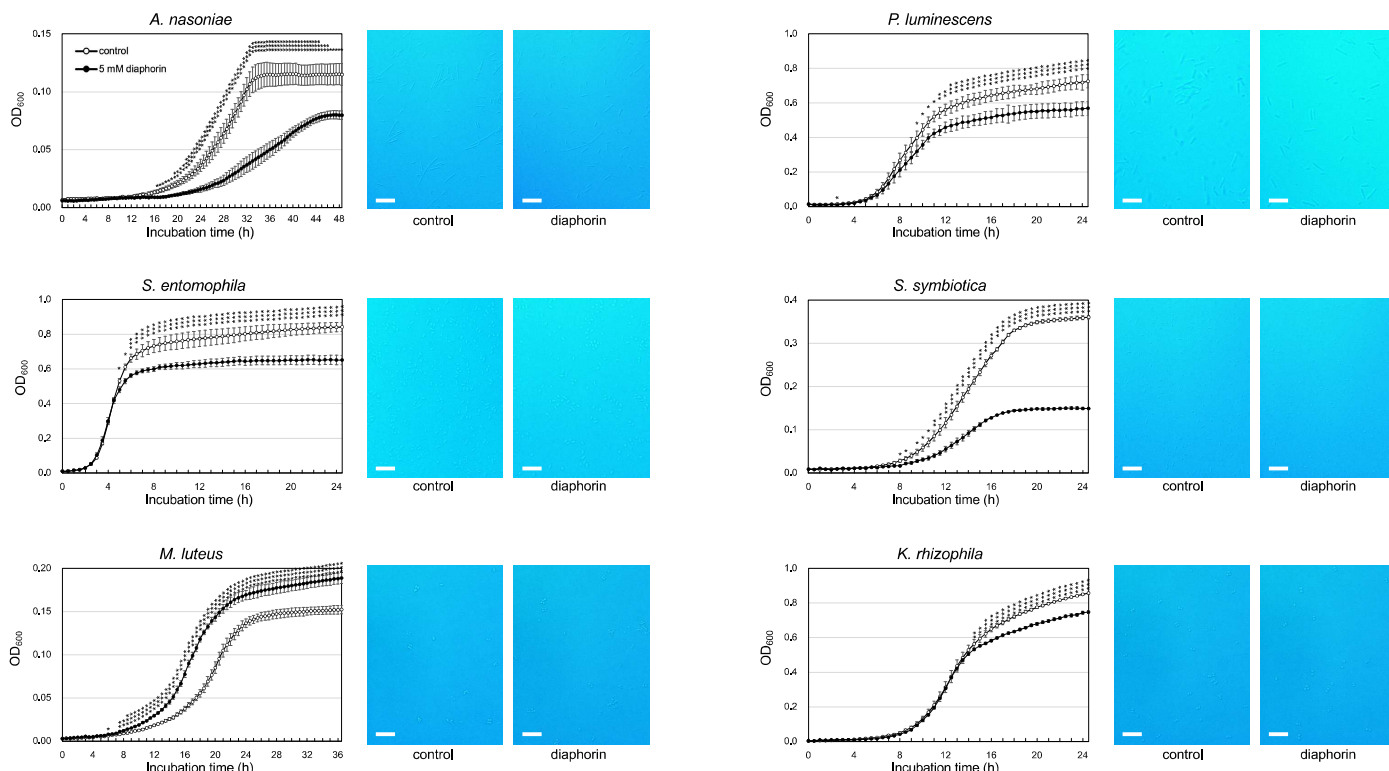


**序論** ディアフォリンは、世界的農業害虫「ミカンキジラミ」の共生細菌が産生する化合物である。これまでの研究で、ディアフォリンが多様な系統の真核生物や、グラム陽性細菌である枯草菌の増殖を抑制する一方、グラム陰性細菌である大腸菌の増殖や代謝を促進することが明らかとなっている。このような生物系統ごとに異なる作用は、微生物を用いた有用物質の工業生産の効率改善への応用利用が期待されると同時に、植物病原菌を含む、ミカンキジラミ体内の細菌叢を規定する要因となり得、植物保護の観点から注目される。そこで本研究では、系統の異なる6種の細菌を用いて、ディアフォリンによる細菌増殖への影響を体系的に調べた。さらに、ディアフォリンに対する細菌の感受性が、細菌を用いた害虫防除の効果に与える影響を評価するため、これら細菌を投与したミカンキジラミの生存率を解析した。

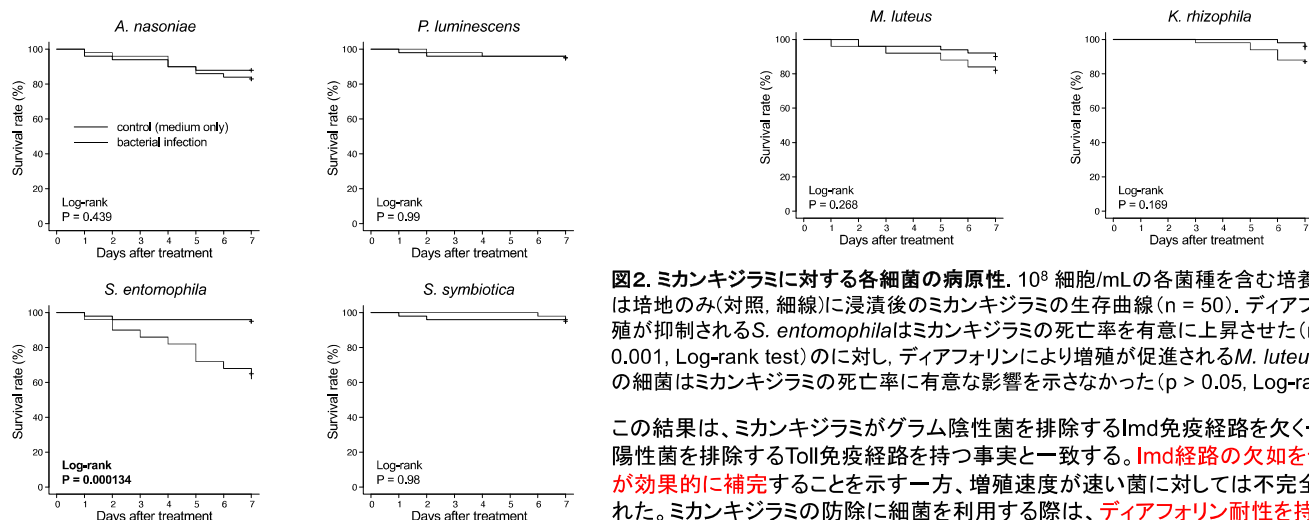


**図1. 細菌増殖に対するディアフォリンの作用.** 右表の6細菌種を5 mMのディアフォリンを含む培地と含まない培地で培養したところ、ディアフォリンは大腸菌と遠縁な*M. luteus*の増殖を促進する一方、他5種の増殖を抑制することが明らかとなった(n=12, ○, 対照群; ●, 処理群; \*, p < 0.05; \*\*, p < 0.01; \*\*\*, p < 0.001, Mann-Whitney U test). 写真は培養終了時の培地の微分干渉像。

Species	グラム陰性菌				グラム陽性菌	
	<i>Arsenophonus nasoniae</i>	<i>Photorhabdus luminescens</i>	<i>Serratia entomophila</i>	<i>Serratia symbiotica</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Kocuria rhizophila</i>
Class	Gamma proteobacteria	Gamma proteobacteria	Gamma proteobacteria	Gamma proteobacteria	Actinobacteria	Actinobacteria
Order	Enterobacteriales	Enterobacteriales	Enterobacteriales	Enterobacteriales	Micrococcales	Micrococcales
Family	Morganellaceae	Morganellaceae	Yersiniaceae	Yersiniaceae	Micrococcaceae	Micrococcaceae
Strain	SK4	Hb	A1	CWBI-2.3	ATCC 15307	FDA strain PCI 1001
Type strain	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No
Collection no.	DSM 15247	DSM 3368	DSM 12358	DSM 23270	NBRC 3333	NBRC 12708
Isolation source	<i>Nasonia vitripennis</i> (wasp)	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (nematode)	diseased <i>Costelytra zealandica</i> (beetle) larva	<i>Aphis fabae</i> (aphid)	-	soil
Culture medium	Medium no. 215	Medium no. 545	Medium no. 545	Medium no. 545	Medium no. 702*	Medium no. 702
Culture temperature	30 °C	30 °C	30 °C	30 °C	30 °C	30 °C



大腸菌と枯草菌についての知見から、ディアフォリンの活性は、グラム陽性菌には抑制的、グラム陰性菌には促進的とも考えられたが、本研究結果はこの仮説を否定し、**抗菌スペクトルはより複雑で、系統や外被構造のみで規定されるわけではないことを示した**。同時に、ディアフォリンが多くの細菌の増殖を抑制することが明らかとなったため、本化合物はミカンキジラミを捕食者や寄生者だけでなく、多様な微生物からも防衛する働きを持つと推察される。



**図2. ミカンキジラミに対する各細菌の病原性.** 10<sup>8</sup> 細胞/mLの各菌種を含む培養液 (太線) もしくは培地のみ(対照, 細線)に浸漬後のミカンキジラミの生存曲線 (n = 50). ディアフォリンにより増殖が抑制される*S. entomophila*はミカンキジラミの死亡率を有意に上昇させた (n = 50, p < 0.001, Log-rank test) のに対し、ディアフォリンにより増殖が促進される*M. luteus*を含め、その他の細菌はミカンキジラミの死亡率に有意な影響を示さなかった (p > 0.05, Log-rank test).

この結果は、ミカンキジラミがグラム陰性菌を排除するImd免疫経路を欠く一方、グラム陽性菌を排除するToll免疫経路を持つ事実と一致する。**Imd経路の欠如をディアフォリンが効果的に補完**することを示す一方、増殖速度が速い菌に対しては不完全なことも示された。ミカンキジラミの防除に細菌を利用する際は、**ディアフォリン耐性を持ち、増殖速度が速い菌種を用いるのが効果的**と考えられる。