

# 共生環境化学研究

研究代表者 中尾 洋一  
(先進理工学部 化学・生命化学科 教授)

## 1. 研究課題

様々な海洋天然化合物は、海洋生物に共生している微生物がその生産に関わっていることが明らかになりつつあり、海洋生物内の共生環境が医薬品素材として価値の高い天然化合物の産生にも影響すると考えられている。また、土壌に生息している土壌菌や根粒菌などの共生微生物の状態が農地の生産性に深く影響することも知られている。

一方、味噌や醤油などに代表される伝統的発酵食品の生産には麹や乳酸菌などの微生物による発酵が欠かせないが、発酵過程でこれらの発酵微生物が生産する代謝産物がわれわれの体の健康維持にかかわると考えられている。われわれの体は食事を通して、これらの発酵微生物代謝産物を日々体内に取り込んでいるが、これらの代謝産物がわれわれの腸内に共生している微生物に対してどのような影響を与え、その結果どのような健康上の効果を発揮しているかについての分子機構については、ほとんど明らかにされていない。

以上いずれのケースにおいても、環境（発酵食品、腸内環境、海洋生物体内、土壌）－共生微生物の関係がカギとなっており、これらの共生環境を維持するための機構を理解することは健康維持や、医薬品などの高付加価値化合物および水産物・農作物の生産にとって利用価値の高い知見となりうる。そこで、本プロジェクト研究ではさまざまな環境－共生関係を対象として、その関係を成立させている機構を分子レベルで解明することを目的とする。

## 2. 主な研究成果

まず、海綿の共生微生物層が反映されると考えられる、二次代謝産物の分布と分類学的・進化学的意義に関して総説をまとめた。(研究業績 総説1)

難培養性である海洋生物の共生微生物を分離培養するため、連続培養法、ディフージョンチャンバー法、ゲルマイクロドロップ法などを用いた方法を検討してきた。特にディフージョンチャンバー法によって海綿から分離した共生微生物について海綿の抽出物を添加した状態で平板培養を行い、得られたコロニーを形成する微生物叢を調べたところ、新規性の高い微生物の割合が非常に高くなっていることを見出した。また、海綿の抽出物には難培養性微生物の生育を回復させる作用があり、共生菌に対して生育のきっかけとなるような作用を示すことを明らかにした。(研究業績 学術論文8) また、難培養性細菌 *Nitrospira* と共存する従属栄養生物との共利関係について明らかにした。(研究業績 学術論文4)

春ウコンに含まれるジテルペン coronarin D が神経幹細胞からアストロサイトへの分化を強く促進することを見出し、その作用メカニズムについても検討を加えた。(研究業績 学術論文1)

一方、各種の生物活性天然化合物の作用機序を解析するため、天然化合物を使った小スケールの化学プローブ調製法を検討し、それらの細胞内局在を観察するとともに、作用メカニ

ズムについても検討を加えた。(研究業績 学術論文2)

### 3. 共同研究者

青井義輝 (広島大学)

曾根秀子 (横浜薬科大学)

田中克典 (東京工業大学)

古谷哲也 (東京農工大学)

Leontine E. Becking (蘭 Wageningen University & Research)

Dirk Erpenbeck (独 Ludwig-Maximilians-Universität München)

### 4. 研究業績

#### 4.1 学術論文

1. Otsuka, S.; Kawamura, M.; Fujino, S.; Nakamura, F.; Arai, D.; Fusetani, N.; Nakao, Y. Coronarin D, a metabolite from the wild turmeric, *Curcuma aromatica*, promotes the differentiation of neural stem cells into astrocytes. *J. Agr. Food Chem.* (2022). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c00020>
2. Kamihira, R.; Nakao, Y. Preparation and Application of a Chemical Probe for Identifying the Targets of the Marine Cyclic Peptide Kapakahine A. *Molecules* 27, 1072, (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27031072>
3. Endo, T.; Nakagomi, Y.; Kawaguchi, E.; Hayakawa, E. S. H.; Vu, H. N.; Takemae, H.; Shinohara, Y.; Yang, D.; Usui, T.; Mizutani, T.; Nakao, Y.; Furuya, T. Anti-malarial activity in a Chinese herbal supplement containing *Inonotus obliquus* and *Panax notoginseng*. *Parasitology Int.* 87, 102532, (2022). <https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102532>
4. Murakami, C.; Machida, K.; Nakao, Y.; Kindaichi, T.; Ohashi, A.; Aoi, Y. Mutualistic relationship between *Nitrospira* and concomitant heterotrophs. *Env. Microbiol. Rep.* 14, 130–137, (2022). doi:10.1111/1758-2229.13030
5. Arai, D.; Nakao, Y. Efficient biallelic knock-in in mouse embryonic stem cells by in vivo  $\theta$ -linearization of donor and transient inhibition of DNA polymerase  $\theta$ /DNA-PK. *Sci. Rep.*, 11, 18132, (2021). DOI: 10.1038/s41598-021-97579-8.
6. Ahmadi, P.; Muguruma, K.; Chang, T.-C.; Tamura, S.; Tsubokura, K.; Egawa, Y.; Suzuki, T.; Dohmae, N.; Nakao, Y.; Tanaka, K. In vivo metal-catalyzed SeCT therapy by a proapoptotic peptide. *Chem. Sci.*, 12, 12266, (2021). DOI: 10.1039/d1sc01784e
7. Wang, W.; Ito, T.; Otsuka, S.; Nansai, .H.; Abe, K.; Nakao, Y.; Ohgane, J.; Yoneda, M.; Sone, H. Epigenetic effects of insecticides on early differentiation of mouse embryonic stem cells. *Toxicol. in Vitro*, 75, 105174, (2021). <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105174>
8. Jung, D.; Machida, K.; Nakao, Y.; Kindaichi, T.; Ohashi, A; Aoi, Y. Triggering Growth via Growth Initiation Factors in Nature: A Putative Mechanism for in situ Cultivation of Previously Uncultivated Microorganisms. *Front. Microbiol.* 12, 537194, (2021). doi: 10.3389/fmicb.2021.537194 open access

9. Vong, K.; Tahara, T.; Urano, S.; Nasibullin, I.; Tsubokura, K.; Nakao, Y.; Kurbangalieva, A.; Onoe, H.; Watanabe, Y.; Tanaka, K. Disrupting tumor onset and growth via selective cell tagging (SeCT) therapy. *Sci. Adv.*, 7: eabg4038 (2021). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg4038>

#### 4.2 総説・著書

1. Galitz, A.; Nakao, Y.; Schupp, P. J.; Wörheide, G.; Erpenbeck, D., A Soft Spot for Chemistry—Current Taxonomic and Evolutionary Implications of Sponge Secondary Metabolite Distribution, *Mar. Drugs*, 19, 448, (2021). DOI: 10.3390/md19080448.
2. 新井大祐, 中尾洋一「クローズアップ実験法 BiPoD : 正確かつ高効率な両アレルノックイン新手法」, *実験医学*, 40, 459-464, (2022).

#### 4.3 招待講演

1. Nakao, Y. “Histone modification, cell differentiation, and chemical epigenomics of food ingredients” 2021 環太平洋国際化学会議 (PACIFICHEM2021) シンポジウム (Frontiers in Macromolecule Epigenetic Modifications: Chemical Tools, Biochemical Mechanisms, Function Annotation/Modulation/Perturbation (#70)) 米国ハワイ州、2021年12月18日。(リモート)

#### 4.4 受賞・表彰

なし

#### 4.5 学会および社会的活動

1. 2021 環太平洋国際化学会議 (PACIFICHEM2021) シンポジウム (Frontiers in Macromolecule Epigenetic Modifications: Chemical Tools, Biochemical Mechanisms, Function Annotation/Modulation/Perturbation (#70)) オーガナイザー、米国ハワイ州、2021年12月18日。(リモート)
2. 天然物討論会世話人
3. 日本ケミカルバイオロジー学会世話人

### 5. 研究活動の課題と展望

難培養性の海洋共生微生物の培養法の開発については、実験そのものは順調に進みながらも論文投稿に際してアクセプトまで想定外に時間がかかっていたが、初めての論文がアクセプトされてからは、投稿論文の内容が受け入れられ採択されるケースが増えてきた。

2020年度から新たにアジア地域における腸内細菌フローラと各国民の習慣病とのかかわりを調査するプロジェクトが始まり、今後はさまざまなサンプルの分析とキーとなる食品成分や代謝物の腸内細菌叢に対する作用を解析する必要が生じる。上で述べた難培養性の微生物の培養法を応用して、これまでに確認が取れていなかったマイナーな腸内細菌の機能についても解析を行えるような手法の確立に取り組みたい。2021年度からは海面の共生微生物をベースにした環境DNA研究が新たに文部科学省のプロジェクト(代表 町田光史)として採択され、現在3年目以降の更新を調整中である。