人工乳を調製する必要がある。牛乳濃縮物をベースにした Auestad らの人工乳の調製法は、手間と時間がかかるうえに、蛋白質組成の変更が難しく、また牛乳由来のホルモンや生理活性物質の混入を防げないという欠点がある。

最近、筆者らの研究室の管野ら⁽⁵⁾は、精製牛乳蛋白質、脂肪、ミネラル、ビタミンを素材として用い、ラット母

乳組成に近似させた人工乳を開発した。Auestad らのラット人工乳の調製法に比べて、より簡単に、より短時間で調製できるうえに、ホルモンや生理活性物質の混入がきわめて少なく、組成の変更が容易である利点をもっている。お椀の舟に乗せて赤ちゃんラットを育てて、哺乳期の栄養研究をこれから進める際に、管野らのラット人工乳は強力な助っ人になると思われる。

- 1) F.R. Borum & M.S. Patel : *J. Nutr.*, **123**, 372 (1993).
- 2) C.A. Flores *et al.* : *J. Nutr.*, **126**, 1673 (1996).
- 3) M. S. Patel *et al.* : *Annu. Rev. Nutr.*, **14**, 21 (1994).
- 4) N. Auestad *et al.* : *Br. J. Nutr.*, **61**, 495 (1989).
- 5) T. Kanno *et al.* : *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, in press (1997).

(矢島高二, 明治乳業(株)栄養科学研究所)

天然物スクリーニングにおける菌類の high throughput と low throughput 分離

メバロチン、サイクロスポリンなどの成功によって、微生物スクリーニング源としての菌類が見直されて 10 年以上が経過した。この間、生体反応の分子レベルでの解明がなされ、それらメカニズムをもとにした *in vitro* の簡単なアッセイ系の構築が可能となった。また多くのサンプルをアッセイするための技術、創薬ロボット、データ処理システムなどが高度に発達した。このため、とりわけアメリカを中心に、医薬品探索の高速大量処理、いわゆる high throughput 化が話題となってきた。そこで、この動きに呼応して、より効率よく菌類を分離するための技術も開発されている。

草食動物の糞に生息する菌類は糞生菌と呼ばれ、土壌から分離することは困難である。また、糞の希釈平板を作っても、酵母か糞生菌以外のコロニー

が広がってしまうために、糞生菌の分離に際しては糞を湿室にいれ、直接分離を行なうのが普通である。

Bills と Polishook⁽¹⁾ は、土壌子囊菌の選択分離法をもとに糞生菌の分離法を改良した。乾燥した鹿の糞を細かい粉末にして、60 % エタノールで 4 分間処理すると、酵母の生育は抑制され、糸状菌コロニー数は増加した。これはエタノールが、生育の早い *Rhizopus*, *Alternaria*, *Fusarium* などを抑制し、糞生菌の胞子の発芽を促進した結果であると考えられる。17 個の糞サンプルから分離された菌類は、合計 221 種 2,780 株にのぼった。そのうち *Sporormiella intermedia* は最も頻度高く分離された種で、1 サンプルを除きすべてのサンプルで分離され、そのうち 10 サンプルでは優占種であった。ちなみに、*S. intermedia* はメルクで

発見された zaragozic acid の生産菌の一つである。

さて、土壌の落葉落枝堆積層、すなわちリターの分解菌は、特に熱帯では新属新種の宝庫であり、基質によって、また分解段階によって出現する菌類が異なる。しかしリター菌の分離に際しても、通常の希釈平板では生育の早い菌類が優先してしまうため、湿室法か洗浄法が用られる。このリター菌についても Bills と Polishook⁽²⁾ は、効率よい分離法を開発している。

彼らは土壌洗浄法を基礎にして、簡単な粒子濾過法を検討した。リターを風乾後粉碎して、2 mm の篩を通し、次に 210 μm と 105 μm のポリプロピレン・メッシュフィルターを通して 10 分間流水で洗浄した。これにより 2 枚のメッシュの間に細かい粉末がトラップされる。普遍的な土壌菌や

葉面菌，たとえば *Cladosporium*，*Penicillium* などの分生子は 105 μm 以下であり，この過程で洗い流される．一方，トラップされる 105 μm から 210 μm の間の粒子には，大きい分生子，菌糸，菌糸を含む植物粒子が存在すると考えられる．これ以上の大きい粒子では，2 種類以上の菌類が同時に混入し分離を困難にすると考えた．

この方法により，コスタリカのリターサンプル 4 種類から，合計 1,709 株を分離した．サンプルあたりの種数は 78 から 134 であり，種の豊富さは希釈法で土壌から得られる数に匹敵する．また分離株は，特有のリター菌，とりわけ多数の分生子果不完全菌類，無孢子株，endophytes，植物病原菌を含んでいた．逆に，典型的な土壌菌類，Mucorales, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces* などは，希釈平板ではリターからも頻度高く分離されるが，この方法では全分離株の中では少数群であった．

一方，Okuda ら⁽³⁾ は，Percoll 密度勾配を用いて多様な土壌菌類を簡単に分離する方法を考案している．Percoll は，生体粒子をその密度に基づいて遠心分離するための担体である．同一の

土壌を用いて，通常の希釈平板法と Percoll で密度勾配を作って分画したフラクションを同じ枚数の平板に塗布し，出現する菌類の種を比較した．その結果，Percoll 法で分離できた種数は通常の方法の 2 倍近かった．これは，Percoll によって特定の菌類が特異的なフラクションに集中するわけではないが，フラクション毎に，菌類の相対出現頻度に差があり，分離確率が変わるためと考えられる．すなわち，Percoll 法は一定の枚数の平板上に出現する菌類の多様性を上昇させるのに便利な方法である．ちなみに，hispidospermidin⁽⁴⁾ の生産菌，*Chaetosphaeronema hispidulum* は本法によって分離された．

さて，医薬品スクリーニング業界において，最近コンビナトリアルケミストリー技術の出現により，天然物スクリーニングに危機感を覚える研究者も多い．上記の分離法は確かに high throughput 化に呼応したものではあるが，これだけでは合成品に有利な throughput 論争に勝てそうにない．下手をすると単に数だけを増やしたことになり，天然物スクリーニング従事者が自分で自分の首を絞めることにな

りかねない．

High throughput 化を考慮しないならば，別の方策もある．Hosoya⁽⁶⁾ は，過去 5 年間に 1,300 株の，主に Leotiales に属する盤菌類を採集分離し，スクリーニングに供試した結果，scyphostatin の発見をはじめ成果を上げつつある．また，これまでスクリーニングで成果の低いとされる水生不完全菌などからも，いくつか新規物質が発見されている．これらの菌群には Skerman 式マニピュレータやタングステン/エルジロイ針（岡田，私信）が有効である．ただし，労力はかかる．また実は，前述の Bills も普段は極細の虫ピン（insect pin）を用いてリター菌を分離しているという．さて，あなたはどちらの道をとるか？

- 1) G.F. Bills & J.D. Polishook : *Nova Hedwigia*, 57, 195 (1993).
- 2) G. F. Bills & J. D. Polishook : *Mycologia*, 86, 187 (1994).
- 3) T. Okuda *et al.* : *Can. J. Bot.*, 73 (suppl. 1), S946 (1995).
- 4) M. Yanagisawa *et al.* : *J. Antibiot.*, 47, 1 (1994).
- 5) T. Hosoya: Proc. 3rd Intern. Symp. Mycol. Soc. Chiba, Japan., p. 80 (1995).

（奥田 徹，田辺製薬（株）医薬拓新研究所）

14-3-3 タンパク質と硝酸還元酵素の活性調節

14-3-3 タンパク質は哺乳類の脳で見いだされた調節因子で，シグナル伝達系酵素の活性調節など，細胞生理学

上重要かつ多彩な機能が明らかになりつつあるタンパク質である．現在までに，動物，植物，昆虫，酵母，ラン藻

などでそのホモログの存在が報告され，その機能に関する知見もここ数年急増している．14-3-3 タンパク質は