スエヒロタケ子実体形成誘導物質スフィンゴ脂質†

川 合 源四郎

(財団法人野田産業科学研究所)

はじめに

スエヒロタケ (*Schizophyllum commune*) の生活環を図1に示したが、これは菌叢類(きのこを作る)担子菌として最も典型的なものである⁽¹⁾。担子胞子が発芽して一核菌糸となり、これが和合性の他の一核菌糸と融合すると、1つの細胞に2つの核が共存する二核菌糸となる(この現象を制御する物質はスエヒロタケではわかっていないが、白きくらげではリボペプチドの一種一本誌坂神先生の項参照)。二核菌糸が、光、温度、湿度、栄養、大気、菌糸令等の条件が整ったときに栄養成長から生殖成長に移換し、子実体(きのこ)を形成し、この過程で形成されるヒダ表面の担子器で核の融合と減数分裂が起こり、半数体の胞子が形成される。この子実体形成を制御する物質については、高等植物の花芽形成誘導物質 (florigen) と同様あまりはっきりとはしていなかった⁽²⁾。筆者等はスエヒロタケに非常に有効で、他のいくつかの担子菌にも有効な物質を見出したので、それについて紹介する。

青カビおよびスエヒロタケの活性因子

筆者等はスエヒロタケの培養中に特異な現象を見出した。スエヒロタケのコロニーの周りに青カビが混入し、両者の接触部位にスエヒロタケの子実体が多数形成されたのである。そこでこの青カビ (*Penicillium funiculosum* A-1) がスエヒロタケに子実体を誘導する活性物質を持っている可能性があると考え、抽出を試みたところ、アセトン等の極性有機溶剤での抽出物中に類似の活性が認められた。同様の活性がスエヒロタケ自身の抽出物にも認められたことから、この青カビおよびスエヒロタケのアセトン抽出物をシリカゲルカラム・クロマトグラフィーと逆相 HPLC の繰返しにより精製したところ、

青カビでは3つ、スエヒロタケでは4つの TLC 的に単一の活性区が得られた⁽³⁻⁶⁾。小濾紙片にこれらの精製活性物質を 0.1 μ g 吸着させたもので十分活性を発現した。

薄層クロマトグラフィー、赤外スペクトル、ガスクロマトグラフィー、質量分析、NMR、ORD 等により構造解析すると、これらはすべて類似の構造のセレブロシドであった(図2)。セレブロシドは長鎖アミノアルコールであるスフィンゴイドの2位のアミノ基に脂肪酸が酸アミド結合し、1位の水酸基に単糖がエーテル結合したもので、これを構成するスフィンゴイド、脂肪酸、糖の組合せにより非常に多くの分子種がある。ここで同定されたものはすべてスフィンゴイドが (4*E*, 8*E*)-9-methyl-4, 8-spingadienine、糖がグルコース、脂肪酸は2-ハイドロキシ酸でその鎖は青カビでは 18:1, 18:0, 17:1, 16:0 (存在量の多い順)、スエヒロタケでは 16:0, 18:0, 17:0, 15:0 (同) であった。また青カビからはセラミドと呼ばれるこれと同じ構造だが糖のない活性物質も得られている。なお、ここで単離同定された物質の一部は森と船木⁽⁷⁾により合成され、その構造と活性が合成化学的にも確認されている。

子実体形成誘導物質の構造活性相関

そこで、市販の合成セレブロシド、ウシやブタの脳セレブロシド、ゴーシェ脾セレブロシド、ウシ脳のセレブロシドやスフィンゴミエリン由来のセラミドの活性を測定してみると、これらには活性が全く認められなかった^(3,4)。一方、上記と同じ構造と報告されている、不完全菌 *Fusicoccum amygdali*⁽⁸⁾、やイソギンチャク⁽⁹⁾のセレブロシドには上と同様の強力な活性が認められた。活性と不活性のセレブロシドやセラミドの構造の差異はスフィンゴイド部位に見出されたことから、この活性の発現には特異のスフィンゴイドの構造が重要な役割を果たしているものと推定した。これと、活性セレブロシドの誘導体の調製⁽⁴⁾、異性体の合成⁽¹⁰⁾、植物スフィンゴ脂質の分別⁽¹¹⁾、と活性測定などより得られた構造と活性の相関

† Sphingolipids as the Fruiting-Inducing Substances in *Schizophyllum commune*.
Genshiro KAWAI (Noda Institute for Scientific Research, Noda 278)

を図3にまとめた。①8位にZ二重結合を持つかあるいは9位にメチル基を持つN-アシルスフィンゴイドの構造が必須、②アシル基の2位の水酸基とC22未満の鎖長は活性を強める、③糖は不必要だが、ヘキソースが2つまでならあっても活性に悪影響ない、④天然型の立

体配置が重要である。

活性物質のスエヒロタケ菌糸に及ぼす効果

この活性物質は試験したスエヒロタケ二核菌糸の大部分および一核菌糸の一部に子実体を誘導した。よって、スエヒロタケに関してはかなり普遍的に有効である。また、暗黒や高温(30℃)の子実体形成しにくい条件でも子実体を誘導した⁽¹²⁾。

通常この活性は二核菌糸を寒天培地で恒温(24℃)で4日間培養し、そのコロニーの少し外側に活性物質を吸着させた小濾紙片を置き、引続き同様に培養して、小濾紙片の周りに速やかに多数の子実体を作るかどうかで検定している。この時の子実体形成過程を実体顕微鏡と走

図1 スエヒロタケの生活環

図2 青カビの主活性セブレロシド Pen II の構造

図4 セレブロンドにより誘導されたスエヒロタケの紐状菌糸(矢印)

活性に阻害的

図3 子実体形成誘導物質の構造活性相関

査型電子顕微鏡で観察すると、活性セレブロシドを含んだ小濾紙片を投与後、24 時間では菌糸数本がまとまった紐状の菌糸が観察され (図 4), 30 時間ではこれがさらに発達して菌糸数十本より成る束状の菌糸, 36 時間ではこの束が多数集合して緩い組織体, 40 時間ではこれが緻密になり basidia のある子実体原基, 72 時間では柄が伸びヒダの成長した成熟子実体が観察された⁽¹²⁾. このようにスエヒロタケ菌糸は速やかにこの活性物質と反応し, 速やかに子実体形成を開始するが, 開始後の速度は Raudaskoski & Vauras⁽¹³⁾ が観察している光と通気刺激によるスエヒロタケの子実体形成速度とほぼ同程度であり, とくに速いというわけではない.

おわりに

この他に cyclic AMP およびその関連物質⁽¹⁴⁾, アンモニア⁽¹⁵⁾, アンスラニル酸⁽¹⁶⁾, サイクロオクタサルファ⁽¹⁷⁾等が一核菌糸や暗黒下における子実体形成誘導物質として報告されているが, ここで述べたスフィンゴ脂質は本菌自体が持つこと, 構造活性相関が高いこと, 微量で効果のあること, 作用スペクトルが広いこと, すぐに反応すること, 通常子実体を形成する条件でより早くより多くの子実体を形成させること, 通常子実体を形成しない条件でも子実体を形成させること等から自然界においても子実体形成の調節物質として機能している可能性が高いと考えている.

このスフィンゴ脂質がスエヒロタケだけでなく他の担子菌にも有効であれば, 学問上ばかりでなく産業上からも有益であろう. これについて現在鋭意検討中であるが, 食用きのこを含むいくつかの菌には効果のあることが間違いなさそうである. また本活性物質の作用機作についてもさらに検討を進めている.

- (1) J. Webster: "Introduction to fungi," Cambridge University Press, Cambridge, 1970.
- (2) G. Manachère: *Physiol. Veg.*, **23**, 221(1985).
- (3) G. Kawai and Y. Ikeda: *Biochim. Biophys. Acta*, **719**, 612 (1982).
- (4) G. Kawai and Y. Ikeda: *Biochim. Biophys. Acta*, **754**, 243 (1983).
- (5) G. Kawai and Y. Ikeda: *J. Lipid Res.*, **26**, 338 (1985).
- (6) G. Kawai, Y. Ikeda and K. Tubaki: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 2137 (1985).
- (7) K. Mori and Y. Funaki: *Tetrahedron Lett.*, **25**, 5291 (1984); *Tetrahedron*, **41**, 2369 (1985); *Tetrahedron*, **41**, 2379 (1985).
- (8) A. Ballio, C. G. Casinovi, M. Framondino, G. Marino, G. Nota and B. Santurbano: *Biochim. Biophys. Acta*, **573**, 51 (1979).
- (9) K. -A. Karlsson, H. Leffler and B. E. Samuelsson: *Biochim. Biophys. Acta*, **574**, 79 (1979).
- (10) Y. Funaki, G. Kawai and K. Mori: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 615 (1986).
- (11) G. Kawai, M. Ohnishi, Y. Fujino and Y. Ikeda: *J. Biol. Chem.*, **261**, 779 (1986).
- (12) G. Kawai: *Trans. Mycol. Soc. Jpn.*, **28**, 107 (1987).
- (13) M. Raudaskoski and R. Vauras: *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **78**, 475 (1982).
- (14) I. Uno and T. Ishikawa: *Molec. Gen. Genet.*, **113**, 228 (1971); *J. Bacteriol.*, **113**, 1240 (1973); *J. Bacteriol.*, **113**, 1249 (1973).
- (15) N. Morimoto, S. Suda and N. Sagara: *Plant Cell Physiol.*, **22**, 247 (1981).
- (16) S. Murao, H. Hayashi and N. Tarui: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1669 (1984).
- (17) H. Hayashi, N. Tarui and S. Murao: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 101 (1985).