

# “菌体外”にスペルミジンを排出する乳酸菌株

---



京都工芸繊維大学 応用生物学系

教授 鈴木 秀之

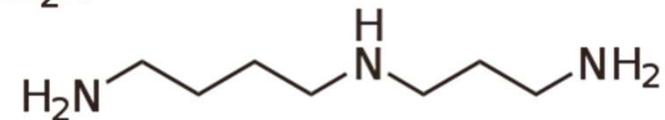
## ポリアミンとは？

生物界に広く存在する生理活性アミン  
DNAの構造安定化  
RNAと相互作用して、タンパク質の合成を促進

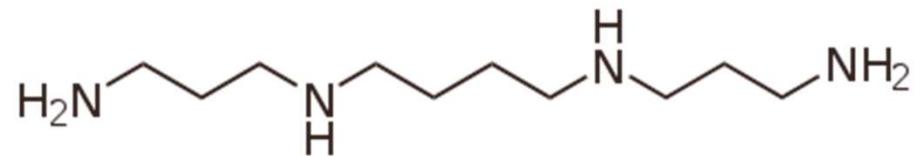
プトレッシン



スペルミジン



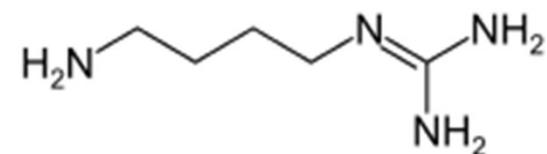
スペルミン



カダベリン

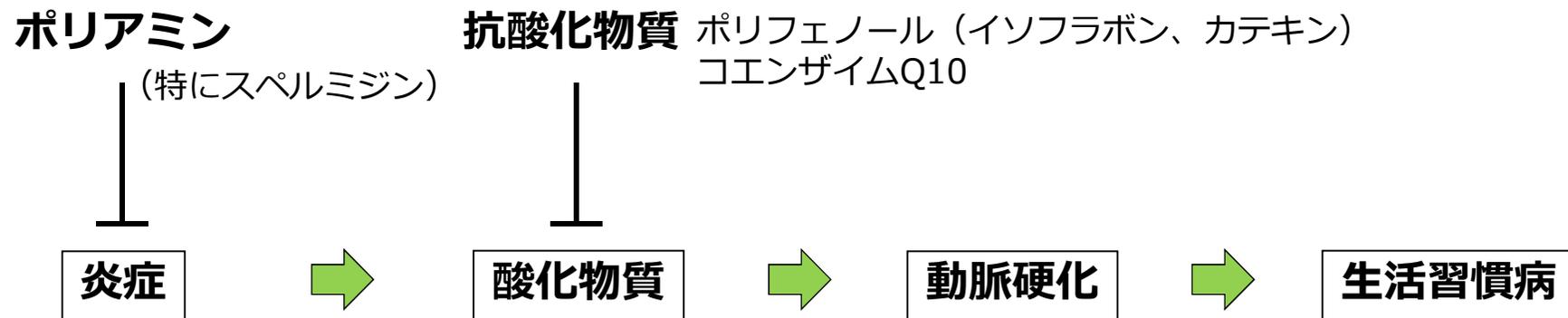


(アグマチン)

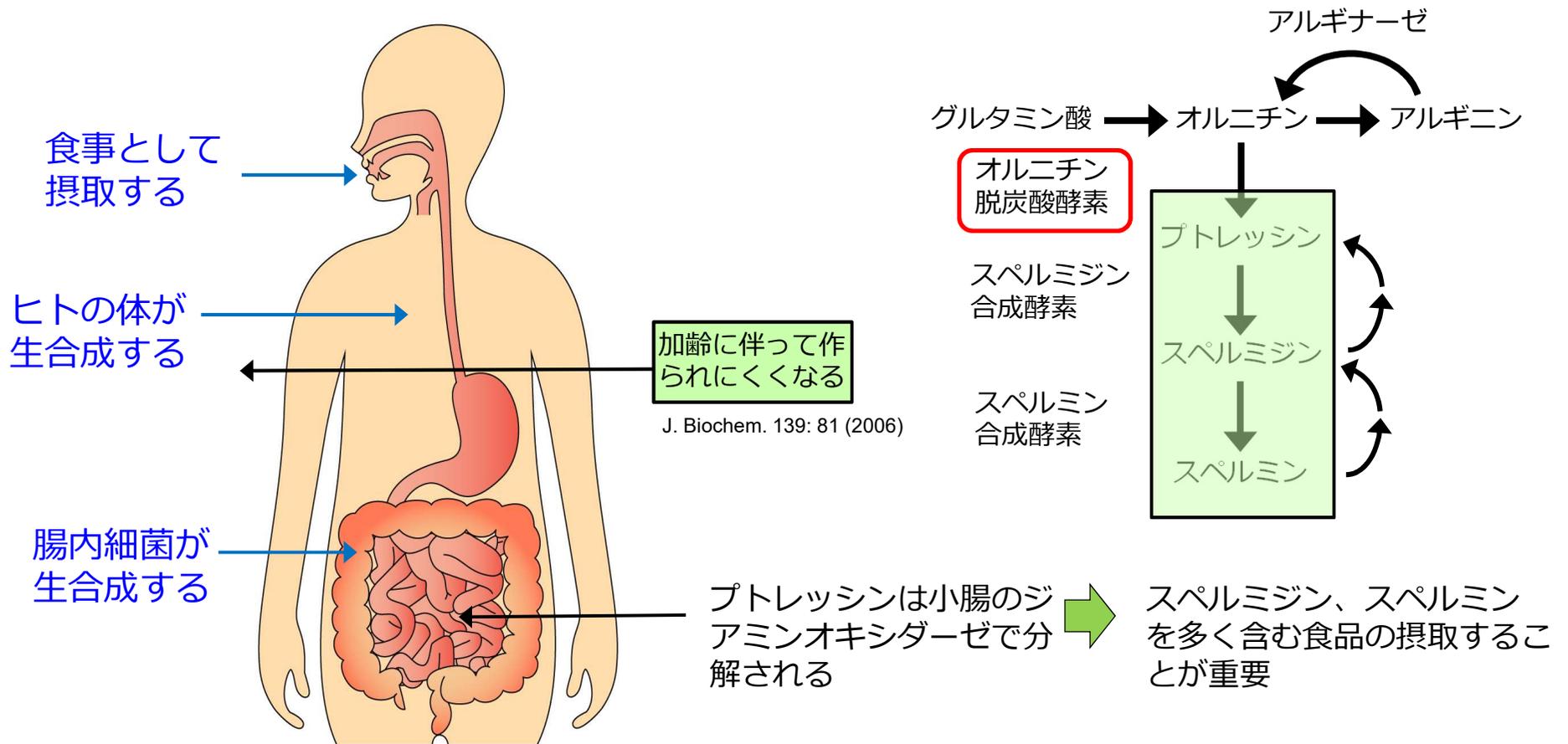


## ポリアミン、特にスペルミジンのヒトの健康維持への効果

- スペルミジンによるオートファジーの誘発が長寿を促進 Nat. Cell Biol. 11:1305 (2009)
- 肝臓、腎臓の保護 Exp. Gerontol. 44:727 (2009)
- 炎症抑制 PLOS One 8:e23652 (2011)
- 認知機能の改善 Nat. Neurosci. 16:1453 (2013)
- 健康寿命の伸長 Sci. Rep. 4:4548 (2014)
- 心不全の進行の抑制 Nat. Med. 22:1428 (2016)
- スペルミジンの健康への効果についての総説 Science 359:eaan2788 (2018)

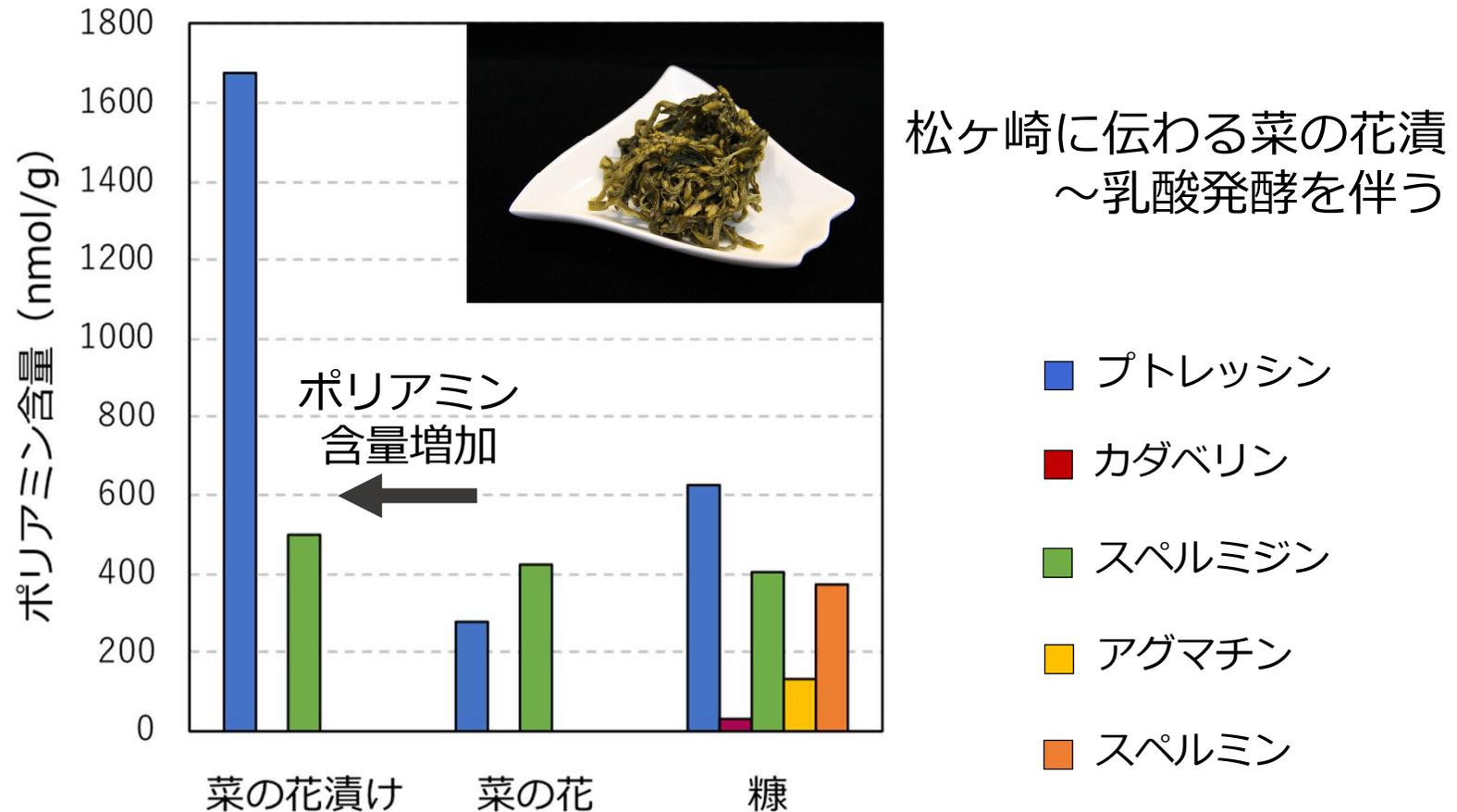


# ヒトのポリアミン（スペルミジン）源



京野菜、京漬物のポリアミン含量を調べた

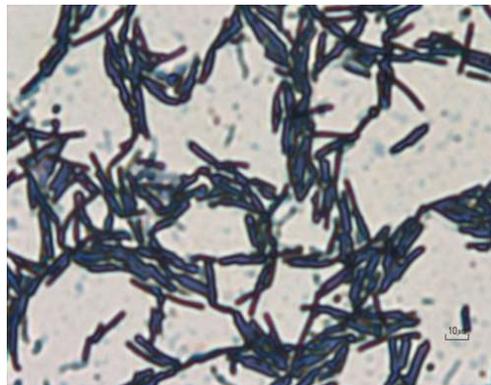
➡ 松ヶ崎に伝わる菜の花漬のスペルミジン含量が高い



## 菜の花漬から単離した乳酸菌の特徴：

### 1. YF1株の16S rDNA解析 → *Bacillus coagulans*と同定

グラム染色 陽性



MRS培地 + CaCO<sub>3</sub>



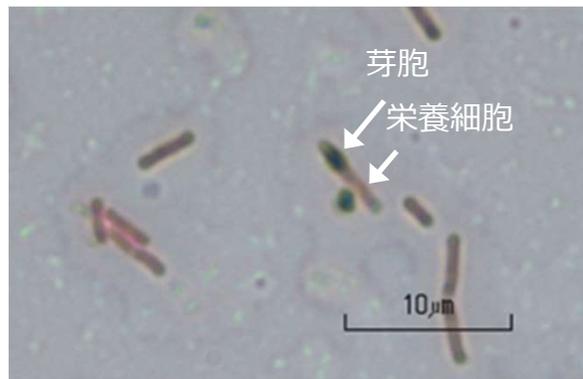
YF1

*B. coagulans*  
基準株 DSM 1

## 菜の花漬から単離した乳酸菌の特徴：

### 2. 胃酸に耐えて腸に届く芽胞を形成する

芽胞染色



胃酸に耐える芽胞形成

人工胃液処理後の生存率(%)

人工胃液処理 / 0.2% NaCl処理

栄養細胞  $6.45 \times 10^{-4}$

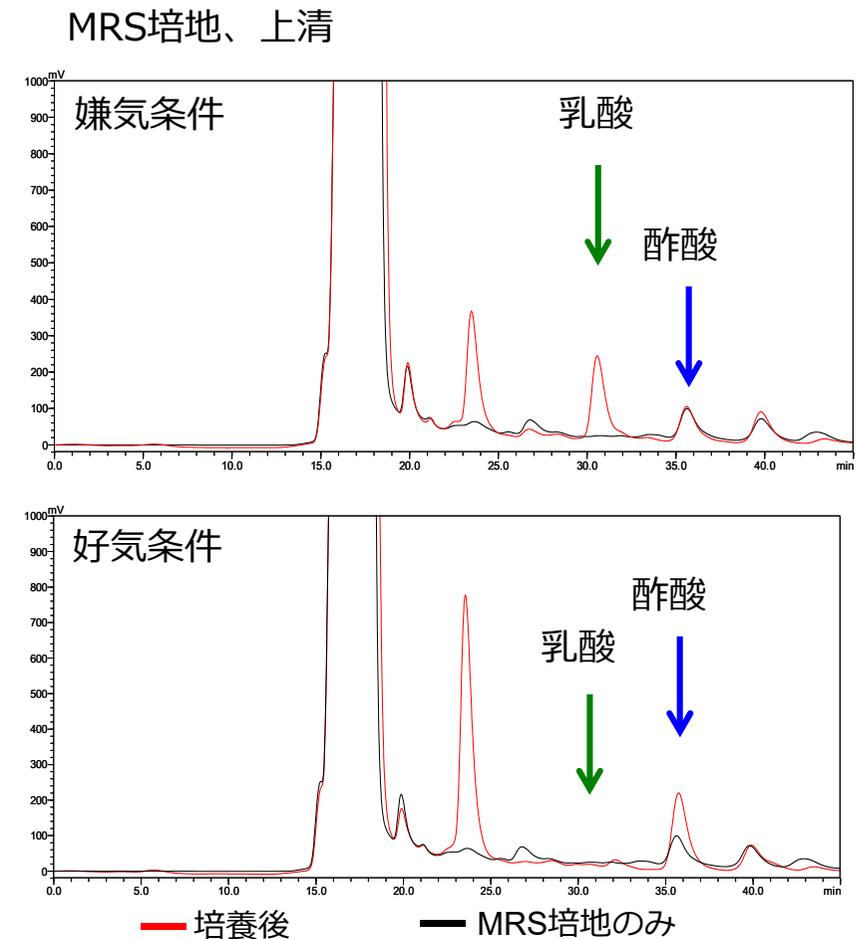
芽胞 24.6

人工胃液

0.2% NaCl 37°C, 3h,  
0.157N HCl 120rpm振盪

## 菜の花漬から単離した乳酸菌の特徴：

3. 嫌気条件下で培養すると、  
乳酸を菌体外に排出



Aminex HPX87-H (300×7.8 mm) カラム (BIO-RAD) を用いたHPLC分析

## 菜の花漬から単離した乳酸菌YF1株の特徴：

嫌気条件、45℃

YF1

*B. coagulans*  
基準株 DSM 1



ポリアミンフリー培地A

グルタミン酸、セリン、ロイシン、アルギニン、アラニン、アデニン、及びウラシルを含まないポリアミン非含有培地

YF1

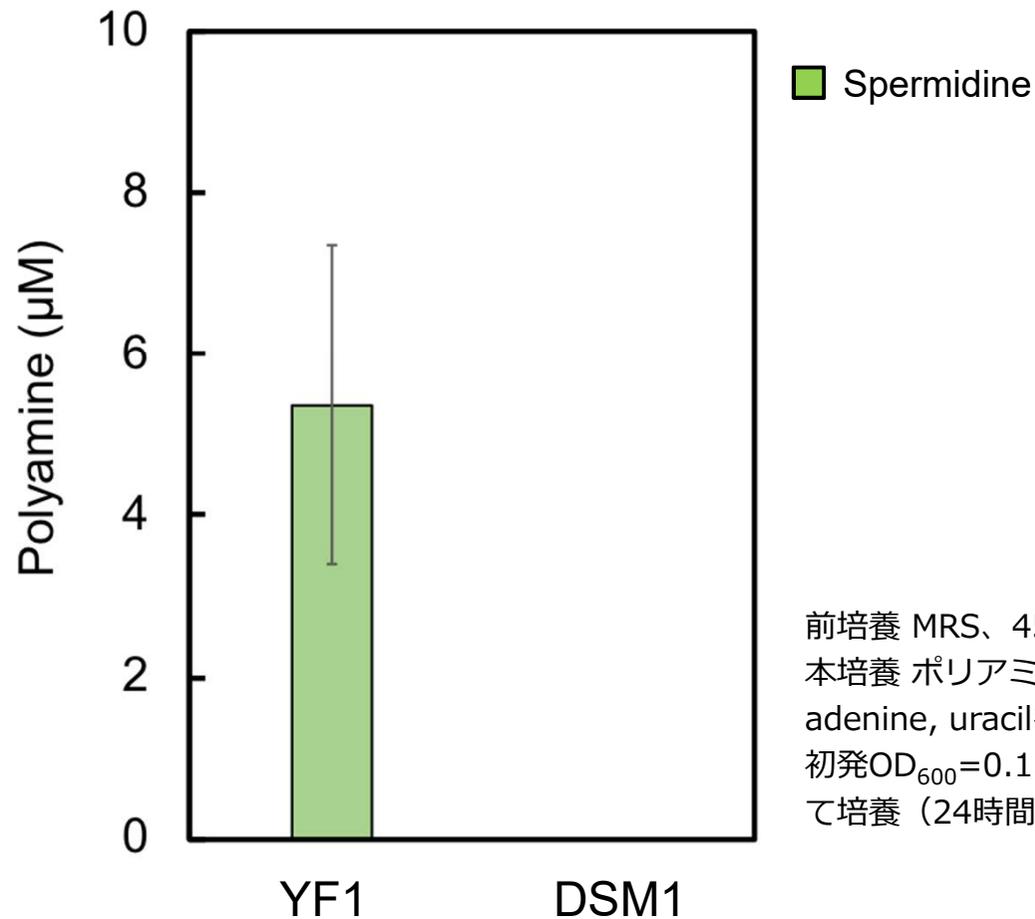
*B. coagulans*  
基準株 DSM 1



ポリアミンフリー培地B

Aに0.5 mg/mLのグルタミン酸1Na・1H<sub>2</sub>Oを添加した

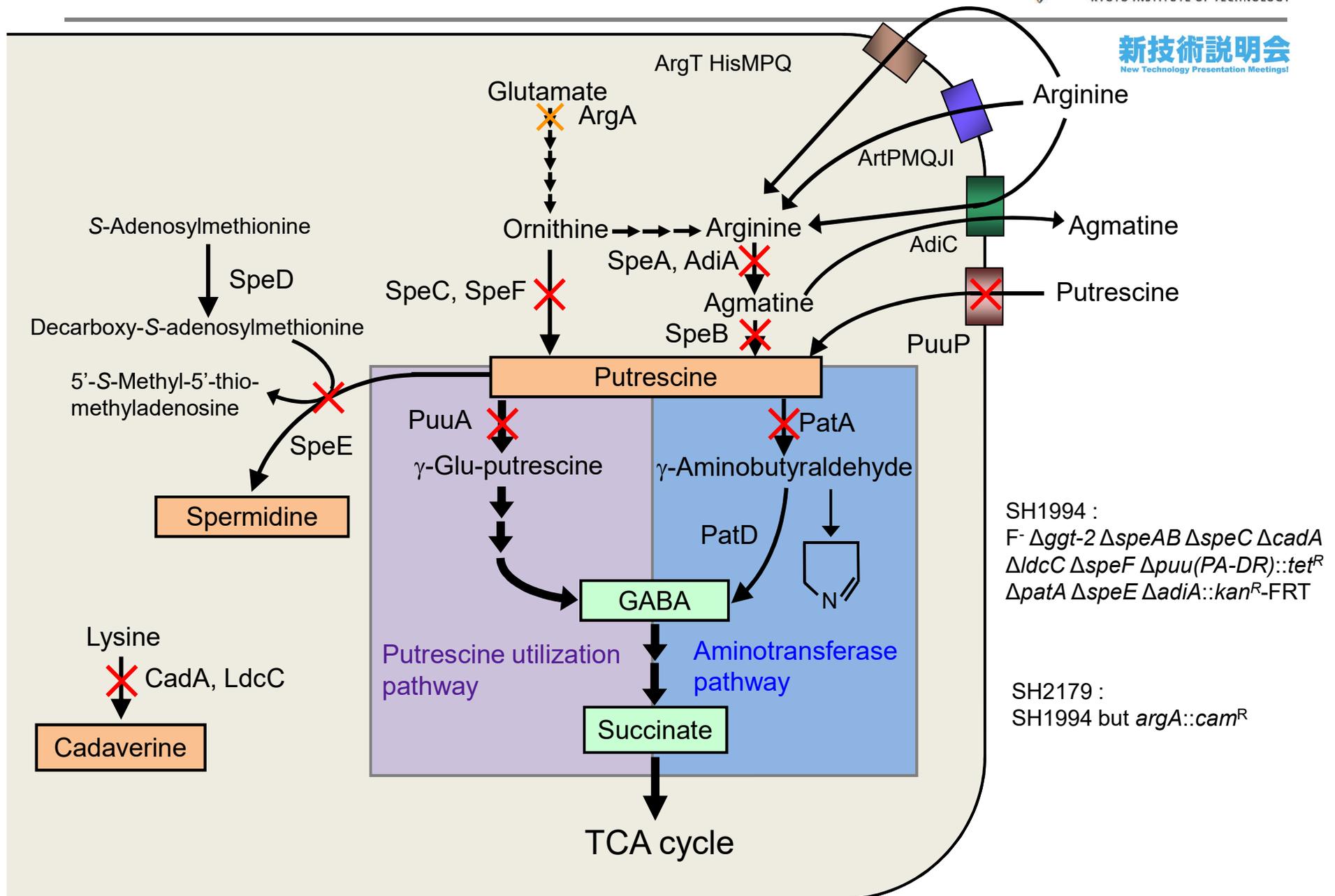
Ser, Leu, Arg, Ala, adenine, uracilを含まない  
ポリアミンフリー培地で嫌気培養した場合の菌体外スperlミジン濃度

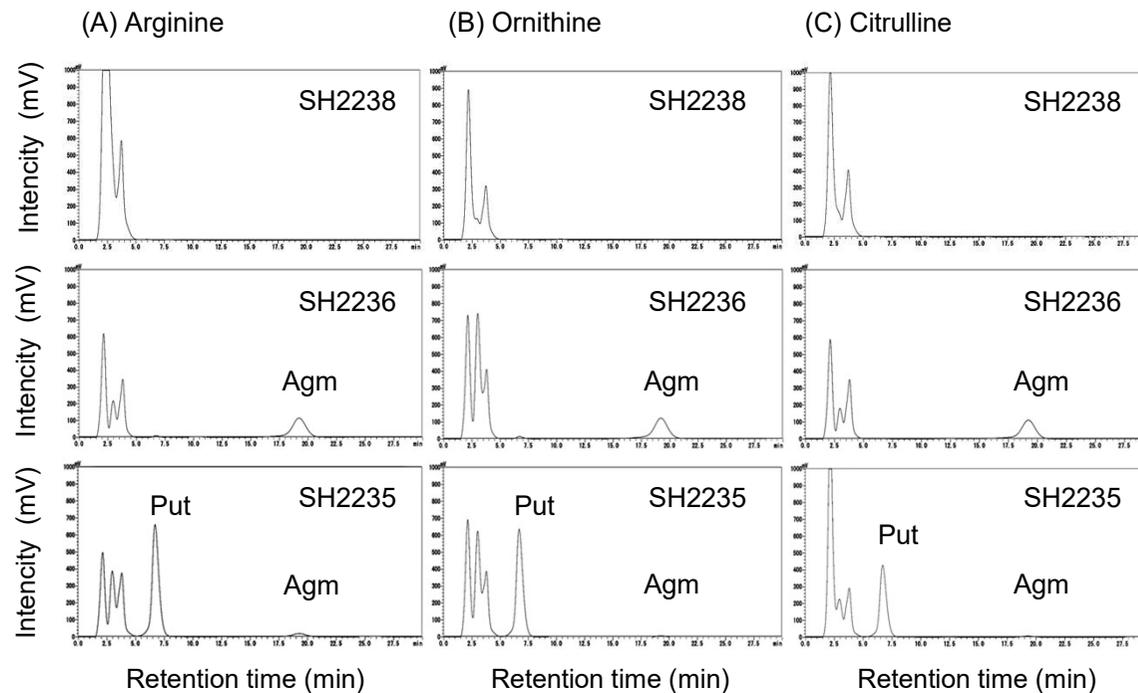


■ Spermidine

前培養 MRS、45℃で好気培養、M9で1度洗菌  
本培養 ポリアミンフリー培地 (Ser, Leu, Arg, Ala, adenine, uracilを含まない)  
初発OD<sub>600</sub>=0.1、45℃、24時間、200 rpmで攪拌して培養 (24時間後のOD<sub>600</sub> YF1 1.22, DSM1 0.52)

# 新技術の概要





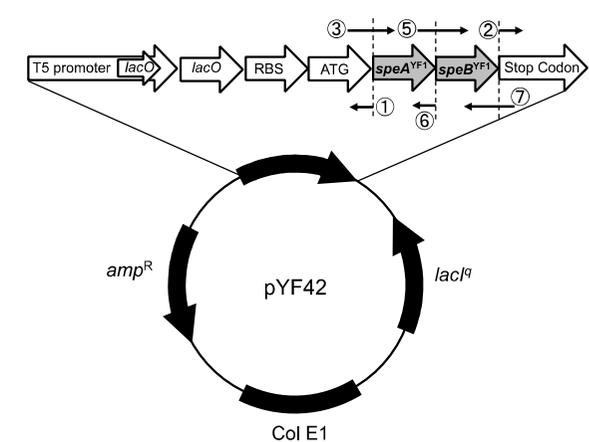
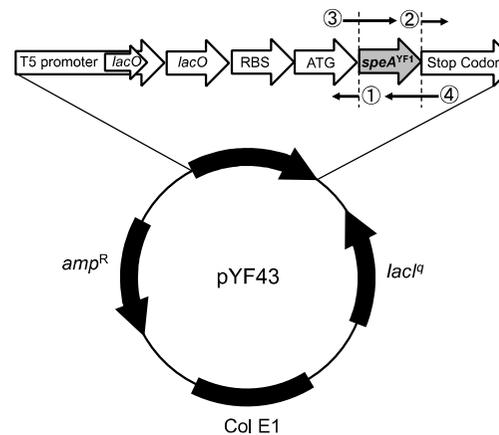
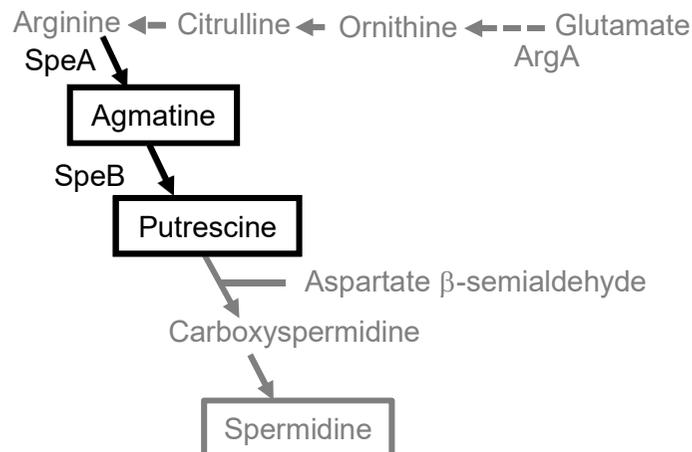
SH2179 :

$F^- \Delta ggt-2 \Delta speAB \Delta speC \Delta cadA \Delta ldcC \Delta speF \Delta puu(PA-DR)::tet^R \Delta patA \Delta speE \Delta adiA::kan^R-FRT \Delta argA::cam^R$

空ベクターを導入

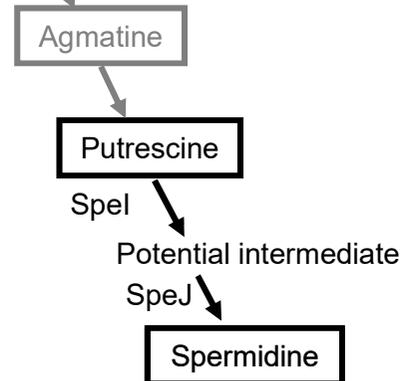
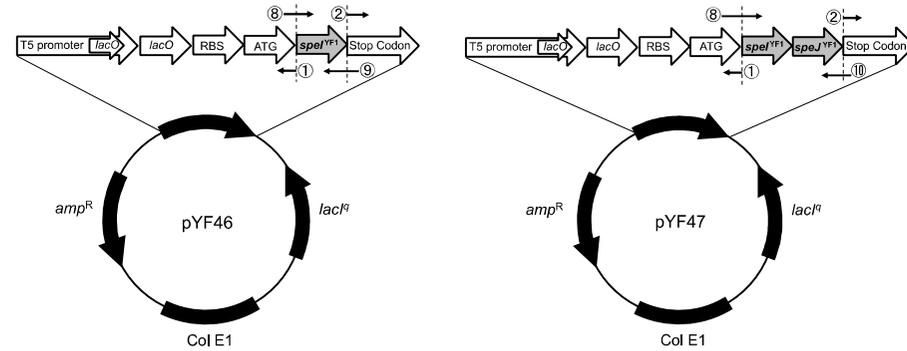
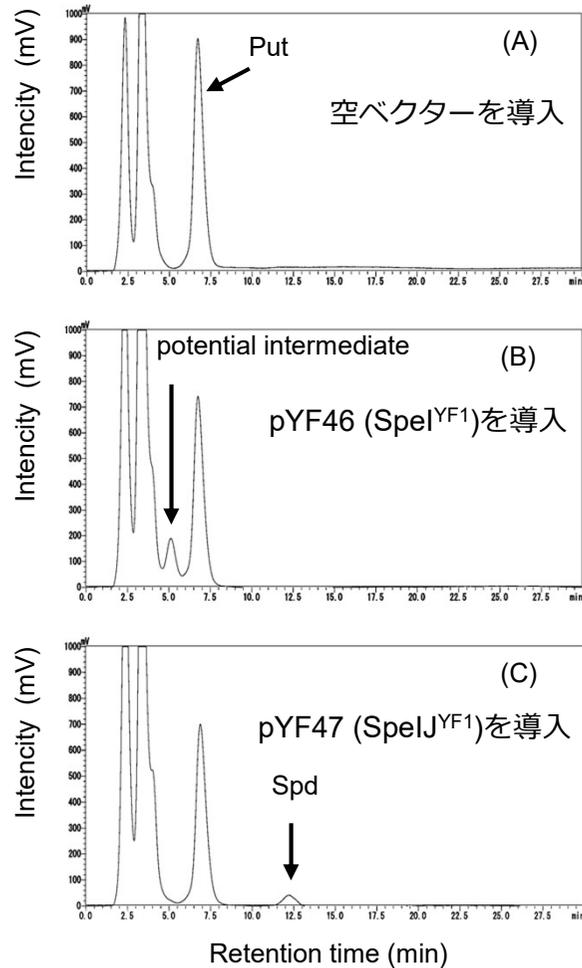
pYF43 (SpeA<sup>YF1</sup>)を導入

pYF42(SpeA<sup>YF1</sup>-SpeB<sup>YF1</sup>)を導入



# 新技術の概要

培地にプロテッシンを添加



SH1994 :  
F<sup>-</sup> Δggg-2 ΔspeAB ΔspeC ΔcadA  
ΔldcC ΔspeF Δpuu(PA-DR)::tet<sup>R</sup>  
ΔpatA ΔspeE ΔadiA::kan<sup>R</sup>-FRT

- 植物性の食品から単離した乳酸菌である。
- 乳酸菌の中でも例外的に芽胞を形成する乳酸菌である。

***Bacillus coagulans* のプロバイオティクスとしての応用例があるが、スペルミジンに関する情報はなかった**

- 嫌気条件下で、自ら生合成したスペルミジンを菌体外に排出する。

**何種かの微生物でスペルミジンエキスポーターの報告はいくつかあるが、自ら生合成したスペルミジンを菌体外に排出したという報告例はない**

- プロバイオティクスとして利用できる乳酸菌の中でも例外的に芽胞を形成するため、胃酸に耐えて生きてそのまま腸に届く乳酸菌としての利用
- 直接スペルミジンを菌体外（＝大腸内）に生産するプロバイオティクスとしての利用
- 細菌によるスペルミジンの発酵生産（化学合成ではない生物生産法）
- 精製したスペルミジンの化粧品などへの添加

- ・ 経口摂取する場合は、芽胞の状態を胃を通過させなければならないので、栄養分や水分活性が高い食品への直接添加は難しい。

(芽胞が発芽して、栄養細胞に戻ってはいけない)

そのような食品への添加は、添加後すぐに食べるという用法を考える必要がある。

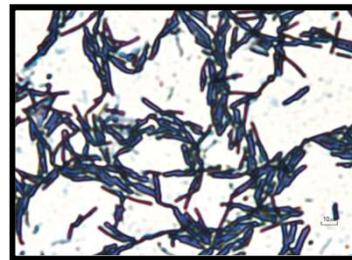
# どのような企業に使って頂きたいか

- この乳酸菌をプロバイオティクスとして利用したいと考える企業。
- この乳酸菌が培地中に生産したスペルミジンをそのまま、あるいは濃縮して、さらには精製して、化粧品素材や化成品中間体などとして利用したいと考える企業。
- 食品素材あるいは食品中でこの乳酸菌を生育させ、生成したスペルミジンが含まれた食品として一緒に摂ることに利用したいと考える企業。



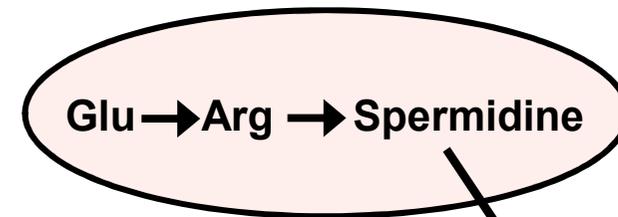
菜の花漬

単離



*Bacillus coagulans*

- ・芽胞を形成する乳酸菌  
→ 胃酸に耐えて、  
生きたまま腸に届く



- ・アルギニン経路で  
スペルミジンを合成し、  
菌体外に排出

## YF1株の特徴

- ・漬物から単離した乳酸菌である
- ・芽胞を形成する乳酸菌である → 芽胞は胃酸に耐性である
- ・アルギニンを培地に添加することなくスペルミジンを生合成する
- ・生合成したスペルミジンを菌体外に排出する
- ・アルギニン→アグマチン→プトレッシン→未同定の間媒体→スペルミジンの順に合成される

発明の名称: スペルミジンを菌体外に生産する乳酸菌

- 出願番号: 特願2021-114048, PCT/JP2022/004877
- 出願人: 国立大学法人京都工芸繊維大学
- 発明者: 鈴木 秀之

## 京都工芸繊維大学

産学公連携推進センター 知的財産戦略室

(研究推進・産学連携課 知的財産係)

tel. 075-724-7039 / fax. 075-724-7030

e-mail [chizai@kit.ac.jp](mailto:chizai@kit.ac.jp)

<https://www.liaison.kit.ac.jp/index.php>