

エンドファイティックなカビ *Penicillium brocae* による 汚染米の安全性について

白鳥望美¹、滝埜昌彦²、遠藤治³、Phitsanu Tulayakul⁴、杉浦義紹¹、小林直樹^{1,3}、
小西良子^{1,3}

(¹麻布大院 環境保健、²アジレント・テクノロジー(株)、³麻布大生命・
環境科学、⁴Kasetsart University)

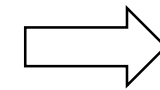
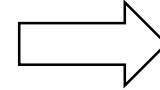
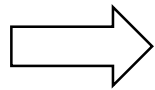
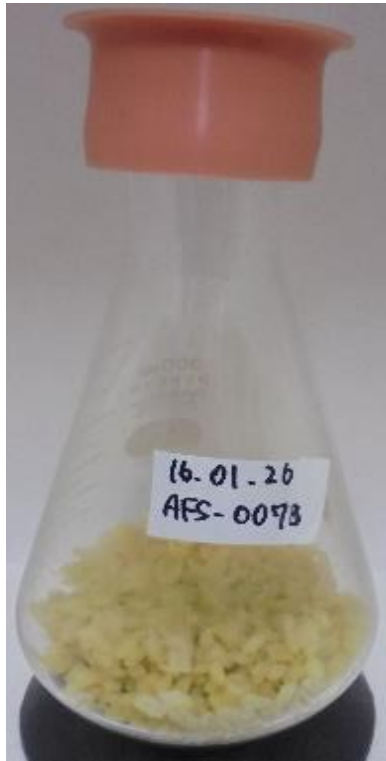
目的

*Penicillium brocae*は、これまでコーヒー豆に寄生する昆虫からの分離により登録されたカビである*。コーヒー豆の他、海洋植物からの分離も報告されエンドファイティックなカビであることが知られている。今回、初めて *P. brocae* がタイ米から分離され、本菌が米を汚染する可能性が示唆された。日本人にとって米は主食であり、最も安全性を確保しなければならない食品のひとつである。米のカビによる汚染では黄変米の原因菌である *P. islandicum*、*P. citreonigrum*、*P. citrinum* による汚染が知られ、これらが産生するカビ毒が人に有害であることが報告されている。菌が産生する二次代謝産物に関しては、詳細な毒性の報告は少なく、米に汚染した場合の本菌の二次代謝産物の毒性評価はない。そこで、本研究では、*P. brocae* によって汚染された米の安全性を明らかにするため、Ames試験による本菌の二次代謝産物の変異原性評価を行い、汚染米の有害性の有無を調べた。

材料と方法

1) 試料調製法

タイ米より分離した *P. brocae* AFS-0006とAFS-0073 菌株の培養抽出物を被験試料とした。供試菌株は米培地で2週間培養しメタノール抽出したものを被験試料とした。これをDMSOに溶解し、米400mg相当の試験原液を調製し、順次希釈してAmes試験に供した。



Ames
試験溶液

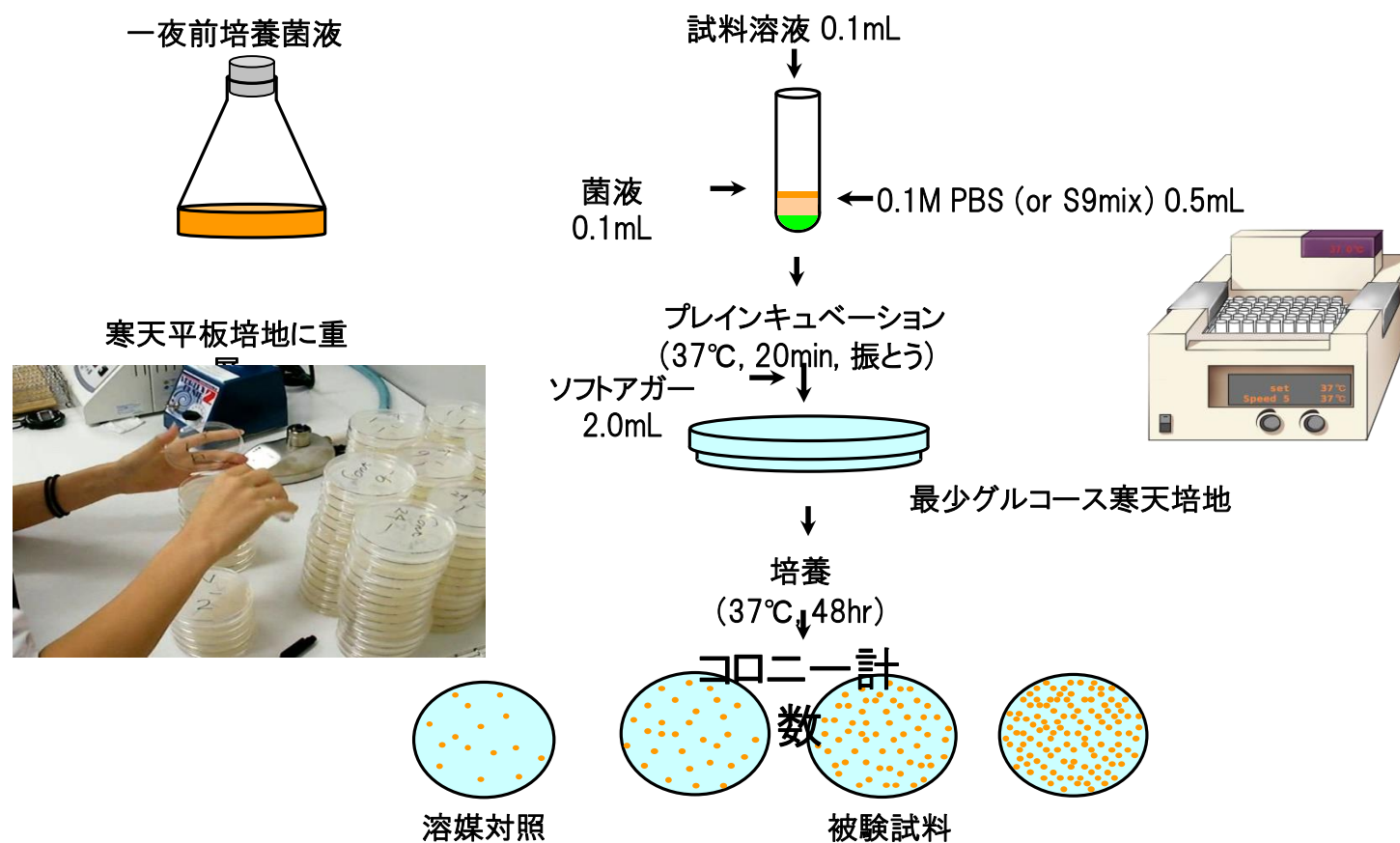
米培地に菌を接種し、
2週間培養

メタノールを加え、
超音波抽出

ろ過後、濃縮乾固

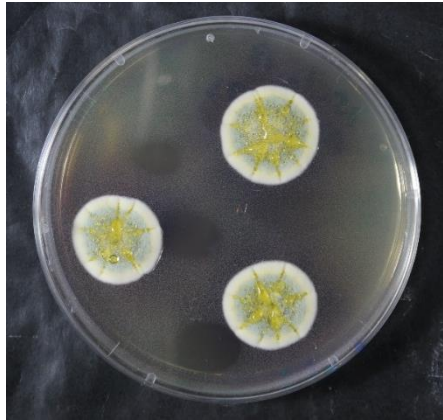
2) Ames試験

Ames試験とは、細菌を用いて突然変異原性を検出する試験であり、DNAや染色体に影響を及ぼす物質を検出することが出来る。今回は、労働安全衛生法の「微生物を用いる変異原性試験」に準拠し行った。供試菌株 *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1537およびYG7108、*Escherichia coli* WP2/*uvrA*/pKM101を用い、ラット肝S9 mix添加あるいは無添加の条件下でプレインキュベーション法により下図のように行った。

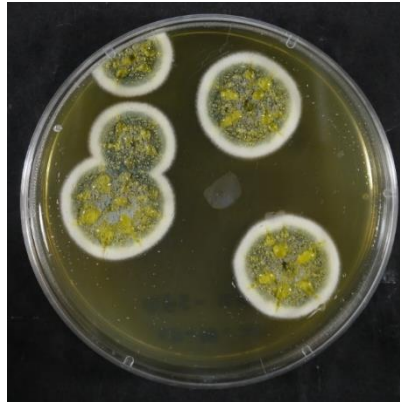


3) 供試菌株の形態学的特徴と分子系統学的位置づけ

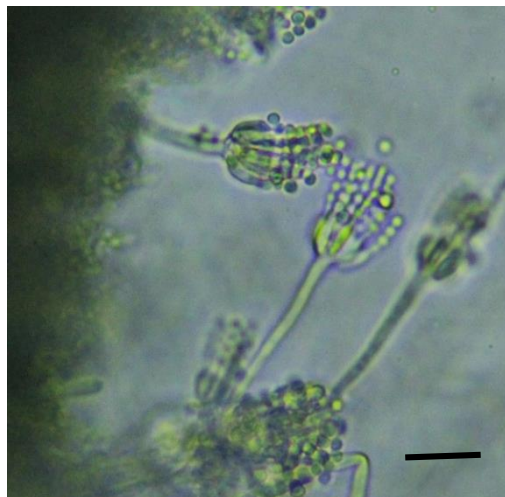
形態学的特徴から 典型的な *P. brocae* であり、分子系統学的にも *P. brocae* と同じクラスターに属していた。



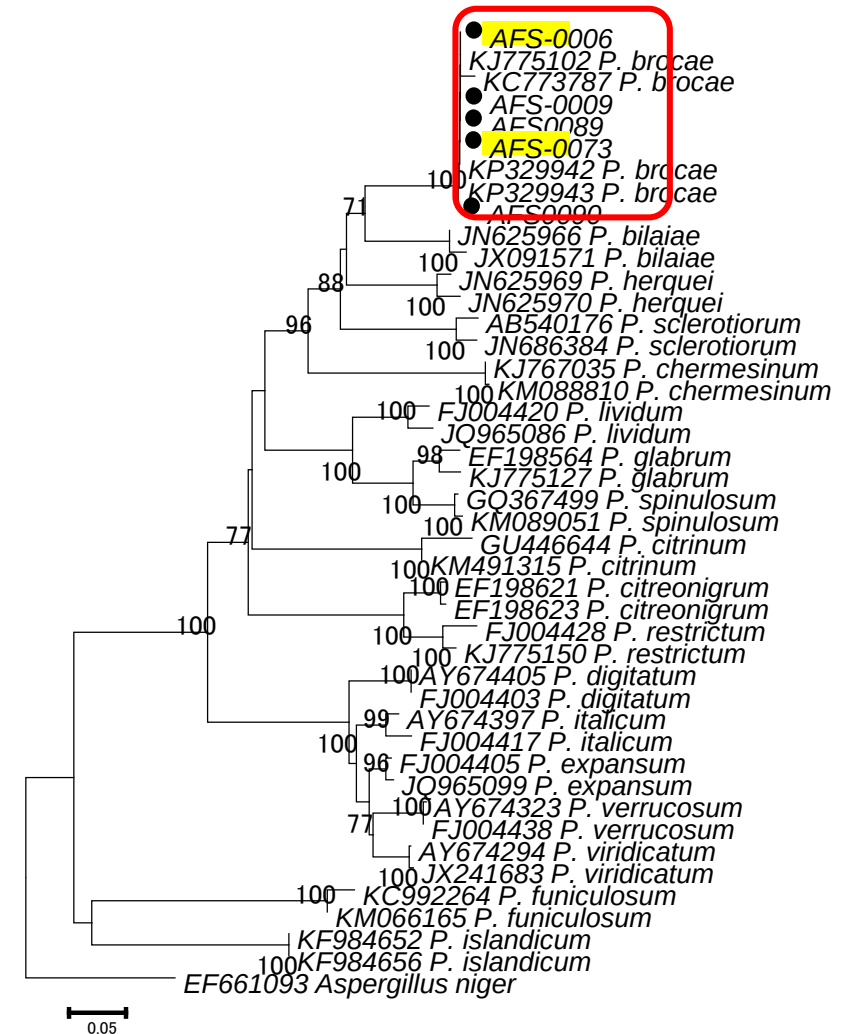
AFS-0006



AFS-0073



※スケールは10μm



結果まとめ-1

Ames菌株と代謝活性化酵素の有無 /被験試料株番号			変異原比活性(revertants / mg)	
			AFS-0006	AFS-0073
塩基対置換型	TA100	without S9mix	70	44
		with S9mix	74	N
	YG7108	without S9mix	87	85
		with S9mix	298	308
	WP2/ <i>uvrA</i> /pKM101	without S9mix	N	N
		with S9mix	N	N
フレームシフト型	TA98	without S9mix	16	N
		with S9mix	17	N
	TA1537	without S9mix	N	N
		with S9mix	13	N

結果まとめ-2

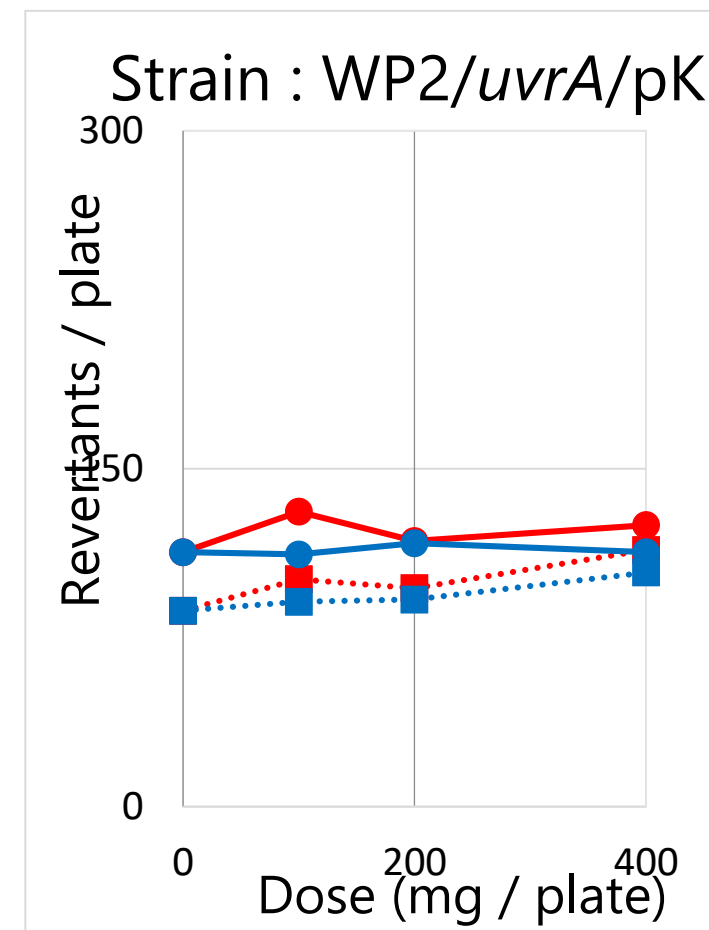
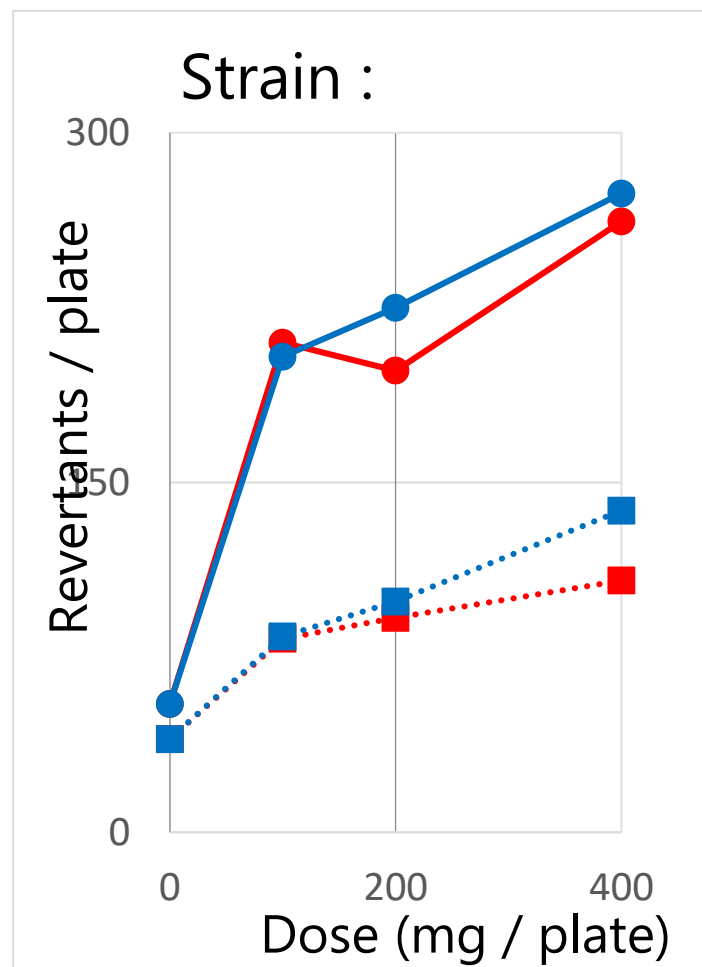
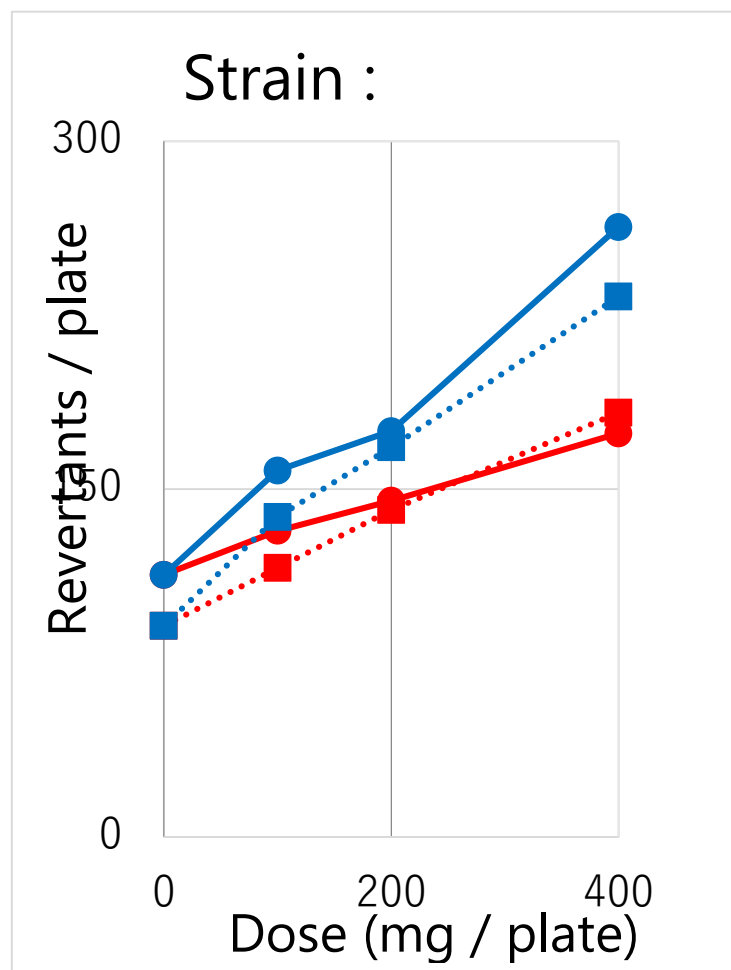
塩基対置換型変異

■ AFS-0006

■ AFS-0073

—○— : with S9mix

··■·· : without S9mix



結果まとめ-3

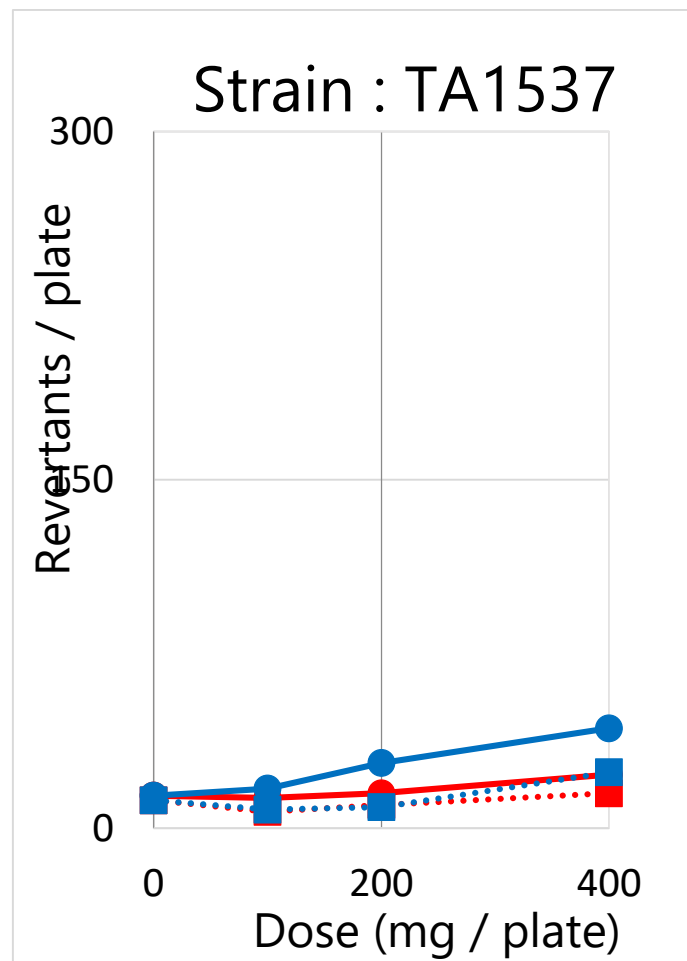
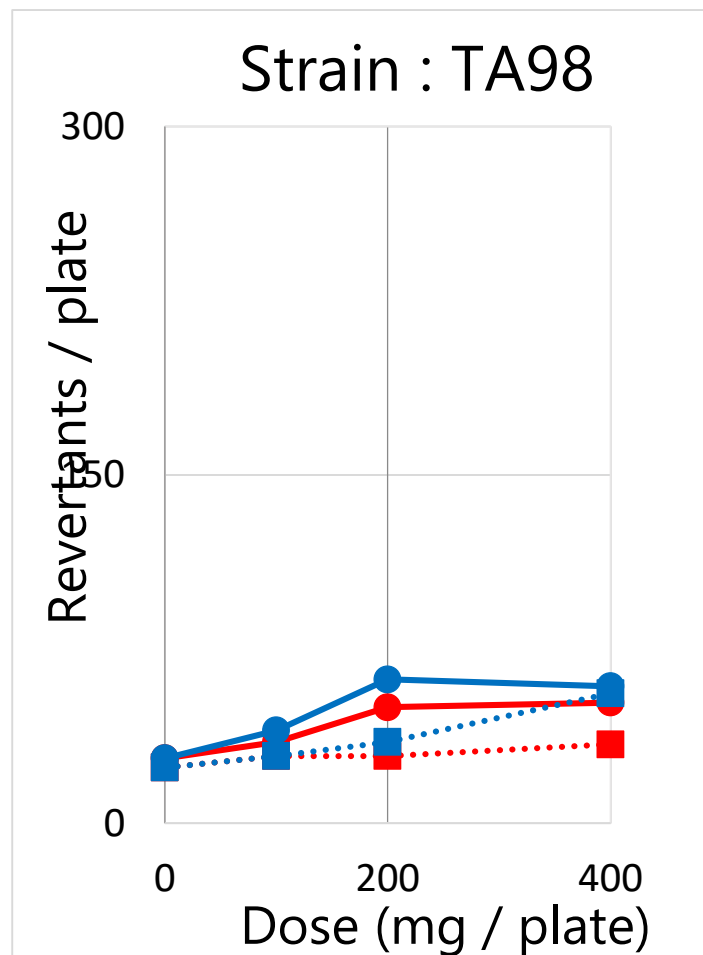
フレームシフト型変異

■ AFS-0006

—○— : with S9mix

··■·· : without S9mix

■ AFS-0073



AFS-0006株由来の試験溶液は、TA100とYG7108において濃度依存的に復帰変異コロニー数の増加が認められた。両者を比べるとYG7108はS9添加で顕著に増加した。また、TA98でも微量の復帰変異コロニー数の増加が認められた。しかし、TA1537およびWP2/*uvrA*/pKM101ではほぼ平行で復帰変異コロニー数に変化は認められなかった。

一方で、AFS-0073株由来の試験溶液は、YG7108では同様の傾向が見られたものの、TA100ではS9mix無添加条件下のみで復帰変異コロニー数の増加が認められた。その他の供試菌株には変化が認められなかった。

結論-1

- 塩基対置換型の変異原性を検出するAmes菌株のうち、YG7108で両被験物質ともに陽性の結果となった。
- TA100のS9mix添加条件下では違いが見られ、また、フレームシフト型の変異原性を検出するAmes菌株でも被験試料の間に違いが見られたことから産生物質の違いが示唆された。
- 陽性と認められた試験菌株の結果から、塩基のうち—GC—部位に対して変異を起こすことが示唆された。

結論-2

- TA100よりもO⁶-メチルグアニンメチル転移酵素欠損株でアルキル化剤に高感受性を示すYG7108で強い変異原性を示したことから、*P. brocae*の二次代謝産物にはアルキル化剤が含まれていることが示唆された。
- S9mix添加条件下でより強い変異原性を示したことから酵素により代謝され変異原性を示す物質が含まれていることが示唆された。

今回、2菌株の*P. brocae*の二次代謝産物の試験を行い、両菌株とも変異原性を示す結果となり、本菌が変異原性物質を産生することが示唆された。

以上のことから、*P. brocae*が米を汚染する新たな危害真菌の1つとなる可能性が示唆された。