

## 植物由来生理活性物質の微生物による代謝

小澤 剛史（筑波大学 生物学類） 指導教員：熊野 匠人（筑波大学 生命環境系）

### 背景・目的

植物には多種多様な構造を有する生理活性物質が存在する。そのような物質には抗菌作用、抗酸化作用、抗癌作用などの疾病予防・治療への効果が認められ、機能性食品や医薬品等に利用されているものがある。しかしこれらの物質の明確な作用機序はもとより、それらの代謝・分解機構は未だ明らかにされていない。

そこで、本研究では、植物由来の生理活性物質の代謝を担っている微生物を広く自然界よりスクリーニングし、生理活性物質の代謝産物を同定し代謝経路を解明するとともに、代謝に関わる酵素及び遺伝子を明らかにすることを目的とした。

具体的には、当研究室で既に取得している植物由来生理活性物質代謝微生物の代謝経路の初発の酵素の単離に成功しているが、本研究ではさらなる代謝経路の解明と新規酵素の取得を目的とした。

### 方法・結果

植物由来生理活性物質のさらなる代謝経路を明らかにするための、前任者が同定した初発の酵素の産物、すなわち 2 番目の酵素の基質と考えられる化合物の合成を以下のように行った。

まず初発の酵素を大腸菌 BL21 (DE3) で異種発現し、菌体をバッファーで懸濁後基質を加え休止菌体反応を行った。

次に反応溶液をアセトン抽出、酢酸エチル抽出したのち高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて精製した。

続いてこの化合物を変換する酵素の同定を目指した。本研究室での先行研究により単離された微生物を、植物由来生理活性物質を単一炭素源とする液体培地で培養を行った。培養した微生物を集菌し、インソネーターで菌体を破碎し、遠心分離してその上清を無細胞抽出液として調製した。この無細胞抽出液と初発の酵素による産物を混合し、28°C でインキュベートした。インキュベート後、反応溶液を HPLC により分析したところ、基質の減少が確認された。

本研究により、植物由来生理活性物質の最初の代謝産物の合成に成功し、更にその物質が代謝されることを確認した。

### 今後の予定

植物由来生理活性物質の代謝に関わる酵素を SDS-PAGE 上で単一になるまで精製し、詳細な酵素学的諸性質を調べる計画である。