

微生物による芳香環化合物の分解に関する研究

寺下 柚子（筑波大学 生物学類）

指導教員：小林 達彦（筑波大学 生命環境系）

背景・目的

芳香環化合物は、天然もしくは非天然で広く見られる化合物である。例えば、天然ではアントシアニン、カテキン、セサミンなど、非天然ではダイオキシンやPCBなどである。それらの多くは難分解性であり、発がん性や環境汚染の原因になるなど、有毒なものについては微生物による分解方法が研究されているが、それらは一部にすぎない。

そこで、本研究では広く私たちの生活に関わる芳香環化合物を選び、それらの代謝を担っている微生物を自然界よりスクリーニングし、代謝経路・代謝産物を同定するとともに、代謝に関わる酵素・遺伝子を単離することを目的とした。

方法・結果

芳香環化合物を単一炭素源とした液体培地に各所から採取した土壌サンプルを加え、振盪培養を行った。得られた菌体培養液を同組成の寒天培地に塗布し、生育したコロニーを同一の新しい培地に植え継ぐことで集積培養を行った。さらに液体培地と同組成の寒天培地上に塗布し、生育してきたコロニーを新しい寒天培地に植え継ぐことで、菌株を単離し、芳香環化合物を代謝できる微生物のスクリーニングを行った。

次に単離した菌株ごとに代謝活性を比較する実験を行った。単離した各菌株を培養し、超音波破碎して無細胞抽出液を調製した。それらの無細胞抽出液と芳香環化合物を混合し、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、基質の減少量を確認した。スクリーニングした菌株の中から特に芳香環化合物の代謝能力の高い菌を選択し、以後の実験に用いた。

本研究により、芳香環化合物を代謝する菌株を得ることができた。しかし、栄養リッチな培地では芳香環化合物の代謝活性が失われてしまったことから、現在、芳香環化合物の分解活性を維持したまま本菌体を大量に取得できる培養条件（培地組成、培養時間、誘導剤）の検討を行っている。

今後の予定

芳香環化合物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。