

## 生理活性物質代謝微生物の探索

室本 亮介（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

生理活性物質はわずかな量で生体に作用し様々な生体反応を引き起こす物質の総称である。自然界にはビタミンや植物由来の低分子化合物など様々な生理活性物質が存在する。しかし、それらの物質の明確な作用機序や代謝・分解機構は未だに明らかにされていないものが多い。

そこで、本研究では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や代謝経路を解明するとともに、代謝に関わる酵素および遺伝子を同定することを目的とした。

### 方法・結果

生理活性物質を単一炭素源及び単一窒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、振とう培養を行った。得られた菌体培養液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、生理活性物質を代謝できる微生物のスクリーニングを行った。

次に単離した菌株毎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生理活性物質を混合し、28℃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、基質の減少量と産物の有無を確認した。その後、LC/MSにより分子量を特定した。スクリーニングした菌株の中から特に代謝能力の高い菌を選択し、以後の実験に用いた。

本研究により見つかった菌の生理活性物質の代謝経路は先行研究で予測されている代謝経路と一致したが、その代謝酵素に関しては一部のみしか明らかになっていないため、その代謝に関わる酵素及び遺伝子について本菌株を対象として研究を進めることで同定していくことにする。

### 今後の予定

生理活性物質の代謝に関わる菌を大量に培養し各種クロマトグラフィー操作により酵素を精製し、詳細な酵素学的諸性質を調べる計画である。