

## 微生物による植物由来芳香環化合物の代謝に関する研究

草刈 雅和（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

植物はフラボノイドなどの多種多様な芳香環化合物を生産する。そのような物質の中には抗菌作用、抗酸化作用、抗ガン作用などの疾病の予防や治療への効果が認められ、機能性食品や医薬品などに利用されているものも一部ある。しかし、これらの物質の中には明確な作用機序はもとより、それらの代謝・分解機構がいまだに明らかになっていないものも少なくない。

本研究では、植物由来芳香環化合物を分解する微生物を自然界よりスクリーニングし、芳香環化合物の分解産物や分解経路を解明するとともに、分解に関わる酵素の諸性質解明及び遺伝子を同定することを目的とした。

### 方法・結果

植物由来芳香環化合物を単一炭素源とした液体培地を用意し、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。菌体の増殖が見られたものについては同一の新しい培地に植え継ぎ集積培養を行った。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それぞれ植え継ぐことで、菌体を単離し、植物由来芳香環化合物を分解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、集菌後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基質である植物由来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、基質の減少量および産物の増加量を確認した。スクリーニングした菌株の中から特に植物由来芳香環化合物に対する分解能が高い菌を選択し以降の実験に用いることとした。

続いて選択した菌から、植物由来芳香環化合物代謝酵素の精製を行うために大量培養における培養条件を検討し、菌体から無細胞抽出液を調製後、各種クロマトグラフィー操作により精製を試みたが、SDS-PAGE上で目的とする酵素を同定するには至らなかった。

### 今後の予定

芳香環化合物の代謝に関わる酵素をSDS-PAGE上で特定できるように培養条件・精製条件を再検討し、精製後は詳細な酵素学的諸性質を調べる予定である。