

## 微生物によるグリコシド代謝に関する研究

堀 早苗 (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

植物や細菌、糸状菌などは、その体内でさまざまな化合物を合成し、自身の生存戦略に利用している。これらの生物による代謝産物は大きく一次代謝産物と二次代謝産物に分けられ、前者は生命を維持するために必須であるのに対し、後者は必ずしも必須ではない化合物である。

二次代謝産物の中に糖付加修飾(配糖化)を受けるものもあり、配糖化された化合物は配糖体(グリコシド)と呼ばれる。このようなグリコシドは元の化合物よりも安定性や水溶性が増大した性質をもつことが知られている。グリコシドは糖と非糖成分がグリコシド結合によって結合した化合物である。それらの中には難分解性のグリコシドが存在するが、その微生物による代謝・分解機構は未だ明らかにされていないものも多い。

先行研究では、グリコシドの代謝を担う土壌微生物が単離され、さらにその微生物よりグリコシド分解酵素が同定された。

本研究では、先行研究により同定されたグリコシド分解酵素を大量に精製するとともに、本酵素の諸性質の解明と酵素反応産物の同定を目的とした。

### 方法・結果

先行研究において同定されたグリコシド分解酵素(以下酵素A)を単離精製した。即ち、菌体を破碎後、無細胞抽出液を調製し、本抽出液を各種カラムクロマトグラフィーに供することによって、SDS-PAGE上で単一バンドになるまで酵素Aを精製した。

得られた精製酵素を用いて、グリコシド分解反応の代謝産物(以下化合物X)の構造を推定した。まず、酵素Aとグリコシドを混合し、28°Cでインキュベートした。インキュベート後、反応溶液を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により分析すると、代謝産物と考えられるピークが複数検出された。さらに、同じ反応溶液を高速液体クロマトグラフィー質量分析計によって分析した結果、産物と考えられた複数のピークは全て同じ質量であった。

次に、酵素Aの諸性質を解明するために、様々な阻害剤(低分子化合物)や金属の影響の検討、酵素反応のストイキオメトリの決定、酵素動力学的パラメーターの決定、温度・pHに対する安定性や依存性の検討を行った。

### 今後の予定

グリコシド分解微生物は酵素Aによって変換された化合物Xをさらに変換する酵素を有しているため、その酵素を精製・同定し、機能解析を行う。