

## 植物由来生理活性物質の微生物代謝に関する研究

齊藤 礼華 (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

リグナンは、フェニルプロパンユニット2つが縮合することで合成される植物由来化合物である。ゴマ種子には重量の半分の油が含まれており、そのうち1%程度がリグナンの一種であるセサミンであるとされている。セサミンは近年サプリメントとしても注目されており、抗酸化、血中コレステロールの低下、脂質低下、抗高血圧、抗炎症などの生理活性が知られている。セサミンの生理活性はセサミンが体内で代謝されることで発揮される場合もあり、例えば、ヒトやマウスでは肝臓において、シトクローム P450 酵素により、抗酸化活性の強いセサミンカテコール体へと変換される。生じたセサミンカテコール体は最終的にはグルクロン酸抱合されて体外に排出される。一方で、微生物によるセサミンの代謝については腸内細菌によってリグナンが哺乳類リグナンと呼ばれる抗酸化活性やエストロゲン様活性を示すエンテロジオールやエンテロラクトンへと変換されることが報告されているものの、いずれの場合も代謝に関わる酵素とその遺伝子は同定されていなかった。

当研究室では、スクリーニングによって土壌よりセサミン資化株を単離し、さらに本菌よりセサミンをセサミンモノカテコール、ジカテコールへと2段階変換するセサミン代謝酵素を発見した。本酵素はテトラヒドロ葉酸 (THF) を補酵素としてメチレン基転移反応を触媒する新規酵素であることが分かった。さらに、本酵素の反応産物であるセサミンジカテコールを代謝するセサミン分解反応の第二段階に関与する酵素の同定が試みられ、酵素 X および Y の関与が示唆されたものの、反応の詳細についてはまだ明らかになっていなかった。

そこで本研究では、酵素 X と Y が関わるセサミンカテコールの代謝反応を明らかにすることを目的とした。

## 方法・結果

初めに、酵素 X と Y によるセサミンモノカテコール、ジカテコールの代謝産物の構造決定を目標とした。まず、目的酵素を異種発現した大腸菌を培養、破碎後、無細胞抽出液を調製し、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、酵素 X と Y を部分精製した。得られた部分精製した酵素 X と Y と、基質となるセサミンモノカテコール、ジカテコールをそれぞれ混合して 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) により分析した結果、酵素の変換活性が弱く、非常に微量の代謝産物しか検出されなかった。そこで、反応時間、基質濃度、補酵素や反応液の pH などいくつか反応条件の検討を行ったが、いずれの条件でも大幅な活性の上昇は見られなかった。

現在は、酵素 X および Y 以外にセサミンカテコールを変換するのに必要な酵素や補因子が必要である可能性も考慮し、セサミン資化性株の無細胞抽出液とセサミンモノカテコールとの反応を試みている。

## 今後の予定

引き続き微生物によるセサミン代謝経路の解明を目指す。まず、高い変換活性を示す反応条件を見出し、代謝産物の構造決定を行う。また、セサミン分解菌を培養し、酵素 X と Y により生成する代謝産物を加えて、分解されるかどうか検討を行うことで、本研究で得られる代謝産物が、セサミンの代謝中間体であるかどうかを検討する。さらに、酵素 X と Y の諸性質を解明する予定である。

続いて、酵素 X と Y 以降の第三段階目の分解反応についても、その反応に関わる酵素の同定と精製、その代謝産物の同定などを行う。代謝産物のなかに有用な生理活性を有する化合物があれば、酵素法や発酵法による大量生産も試みる。