

## 土壌細菌が産生する黒色物質に関する研究

河股 純仁（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が縮合することで合成される植物由来化合物である。野菜、ナッツ、紅茶など多くの食品に含まれ、我々が摂取するリグナンの供給源となっている。アジア諸国では、リグナンを含むゴマは古くから用いられており、高栄養食材としてだけでなく、文化的にも浸透している。ゴマリグナンに含まれる『セサミン』は、抗酸化作用、コレステロール低下作用、抗炎症作用等の様々な効果を有する生理活性物質として知られており、近年ではサプリメントとして販売されるなど、注目を集めている。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。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。

この資化株は、通常黒くはならないが、セサミンを加えた培地で培養すると培地が黒変する。そのため、セサミンを代謝、またはセサミンに応答することで何らかの化合物が産生されていることが予想される。この時、菌体は黒変していないため、この化合物は、培地中に分泌されていると考えられ、おそらく植物あるいは他の土壌微生物に向けたものである。

そこで本研究では、培養上清から黒色物質を単離し、どのような分子であるかを解明するとともに、この物質が他の生物に与える影響について明らかにすることを目的とした。

### 方法・結果

初めに、セサミン資化株培養上清から黒色物質を抽出し、精製することを目的として実験を行った。オープンカラムを用い、陽イオン交換樹脂に吸着させ、アンモニア水で溶出後、アセトニトリル、エタノールを用いて洗浄することで部分精製が可能であることが明らかになった。

次に、この物質の分子量や立体構造を解明することを目的として実験を行った。液体クロマトグラフィー/質量分析器(LC/MS)や核磁気共鳴装置(NMR)を用い、部分精製後のサンプルを分析したが、分子量、立体構造の特定には至らなかった。そこで、ゲルろ過クロマトグラフィーを用いて分子量を概算したところ、上記の装置の検出限界を超える高分子化合物であることが明らかになった。これらの結果から、生物体有機物が微生物作用を受けることで生じた物質であることから、腐植物質の類であると予想した。現在、代表的な腐植物質であるフミン酸との比較を行っている。

### 今後の予定

引き続き、黒色物質の分子量、立体構造解明を目指す。まず、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計(MALDI/TOFMS)を用い、正確な分子量の解明を目指す。その後、部分構造の決定を行う。

続いて、黒色物質が植物や微生物に与える影響について解明していく予定である。