

放線菌によるキノン系化合物代謝に関する研究

伊東 勇輝 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 熊野 匠人 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

人々は古より様々な植物を食品として摂取している。その中でもコーヒーは14世紀ごろにイエメンで飲用が始まり、17世紀前半にヨーロッパ世界に伝えられて以来世界中の人々に親しまれている。様々な生理活性物質が含まれているコーヒーには、近年、がんや糖尿病などの生活習慣病の予防に効果があるという研究成果が報告され、関心を集めている。しかし、このようにコーヒーの効能が注目され愛飲されている一方、世界で年間200万トンという大量のコーヒー抽出残渣が発生しており、その殆どが廃棄されている。また、コーヒー抽出残渣には、約97%の有機物、2%の窒素源、0.2%のリン酸、0.3%のカリウムなどの物質が含まれていると言われる。コーヒー抽出残渣の利用方法としては、堆肥として再利用する研究や、化学的な操作によって燃料に変換する研究が行われている。一方、コーヒー抽出残渣の有機物の中には生理活性物質が含まれていると考えられているが、コーヒー抽出残渣を微生物変換させて何か有用物質を取り出した例はない。そこで、コーヒー抽出残渣中の生理活性物質から微生物変換によって新たな有用生理活性物質を生産することができれば、食品廃棄物の削減につながるだけでなく、資源として付加価値をつけることができると考え、コーヒー抽出残渣から新たな化合物を生産する微生物を探索するとともに変換産物の同定を行うことを目的に研究を行った。

方法・結果

本研究では、コーヒー抽出残渣を微生物変換し、新規化合物、新規酵素を探索することを検討した。

本研究の先行研究においては、コーヒー抽出残渣を70%エタノールで抽出後、ロータリーエバポレーターを用いてエタノールを除去することで、コーヒー残渣抽出液 (CGE) を調製し、これを基質として用いた。研究室の保存菌株を用いて、通常の栄養培地と CGE を添加した栄養培地でそれぞれ培養を行い、培養液を LCMS に供したところ、A 株の培養液において CGE を添加した時のみ生じる (すなわち、CGE 中の変換産物と考えられる) 化合物 X のピークが検出された。次に、変換産物の構造決定を行うために培養液から変換産物の単離を行い、NMR に供して構造決定を行った後、データベースで変換産物の検索を行ったところ、キノン系の新規化合物であることが半明した。

本研究では、まず、化合物 X を安定的に得られるようにするために、栄養培地を用いて種々の検討を行い、最適な培養日数と温度の条件を明らかにした。この後の実験では本条件を用いることにした。

つづいて、CGE 中に存在する化合物 X の基質を調べるために、CGE の分画を試み、産物が得られるかを確かめた。CGE の水分をすべて飛ばし、残った物質を水とアルコールの順に溶かすことで、CGE 中の物質を水に溶ける物質とアルコールに溶ける物質に分けた。それぞれの画分を培地に添加して培養し、培養液を

LCMS で分析した。その結果、アルコール画分を添加した培養液において、化合物 X のピークが見られた。したがって、化合物 X の基質は CGE のアルコール画分に含まれていることがわかった。

現在、CGE 中の基質のさらなる絞り込み・特定と、中間産物産生酵素の精製を試みている。