

セサミン代謝菌の分布に関する研究

諏訪 怜音（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）

目的・背景

ゴマに含まれるセサミンは抗酸化や血中コレステロール低下、脂質低下等、様々な生理活性作用をもっていることが知られており、多くの機能性食品やサプリメントに用いられている。このようにセサミンは利用され、ヒトの体内における代謝や機能が明らかにされつつある一方、微生物における代謝については明らかにされていなかった。そこで本研究室においてセサミンを代謝する微生物の探索が行われ、ゴマ畑の土壌からセサミンを代謝する微生物を単離し、セサミンをセサミンモノカテコール、セサミンジカテコールへと変換する新規酵素の存在を明らかにすることが出来た。[1]

自然界においてセサミンはゴマ種子の他にもゴマの葉、モクレン（ハクモクレン）の葉に存在することが知られており、昆虫の幼虫による食害から葉を守る殺幼虫活性をもっていることが知られている。しかしセサミンの殺幼虫活性にもかかわらず、ゴマやモクレンの葉を専食する幼虫が存在する。それらの幼虫はセサミンの殺幼虫活性を回避するために、セサミン代謝能をもつ腸内細菌と共生している可能性がある。本研究では昆虫腸内におけるセサミン代謝細菌の同定及びその代謝経路の同定を目的とした。

方法

代謝細菌の単離

ゴマの葉を主餌とするシモフリスズメ、モクレンの葉を主餌とするコブシハバチの幼虫の腸サンプルをバッファーで懸濁後、スクリーニングを行った。

セサミン代謝活性の測定

単離した細菌を培養後集菌し、バッファー及び基質を加えて休止菌体反応を行った。反応は2倍量のメタノールで停止し、遠心後上清をHPLCに供することでセサミンの代謝活性を測定した。

セサミン代謝産物の構造推定

セサミンの代謝活性が見られたサンプルのうち、特に活性が高かったものにおいてタイムコースを作成して休止菌体反応を行った。反応を2倍量のメタノールで停止後遠心し、上清を質量分析計に供した。

セサミン代謝細菌の同定

セサミン代謝活性が見られた細菌について、培養後集菌しMagExtractor-Genome-を用いてゲノムDNAを抽出した。抽出したゲノムDNAの16S rRNA遺伝子配列をシーケンスし細菌の同定を行った。

結果

先任者によってコブシハバチ、シモフリスズメの腸内からスクリーニングされたサンプルにおいてセサミンの代謝活性を測定したところ、単離された全てのサンプルにおいてセサミンの代謝活

性が確認された。そこで、特に代謝活性の高かったシモフリスズメ由来の株において休止菌体反応を行い、経時的に代謝産物の解析を行った。その結果、代謝産物としてセサミンモノカテコール、セサミンジカテコールが順に生成したのち、他にいくつかの化合物が生成していることが示唆され、うち1つは本研究室で初めて同定された土壌細菌により生成するセサミンの代謝産物と同じ分子量をもつ化合物であることが示唆された。そこで今回用いた細菌を同定するためゲノム抽出を行い、16S rRNA配列を用いた解析を行った。その結果、本研究室で同定されていたセサミン代謝細菌と今回スクリーニングによって得られた昆虫の腸内細菌は異なる属・種であることが明らかとなり、これらの微生物は類似したセサミン代謝システムを保持していることが示唆された。従って、今後はより詳細な昆虫の腸内細菌によるセサミン代謝経路について明らかにすることを目標として研究を行う予定である。

参考文献

[1] Kumano T, Fujiki E, Hashimoto Y, Kobayashi M., “Discovery of a sesamin-metabolizing microorganism and a new enzyme.” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **113**, 9087-9092 (2016)