

ごまセサミン代謝研究の扉 — 開けゴマ！
～ゴマ由来生理活性物質セサミンを分解する微生物とその代謝酵素の発見～

研究成果のポイント

1. ゴマ由来生理活性物質であるセサミンを代謝する細菌を同定し、セサミンを分解して有用な抗酸化素材に換える酵素を発見しました
2. セサミンを分解する細菌の同定は初であると同時に、その分解酵素も新規なものでした
3. セサミンより強い抗酸化活性を示すセサミンモノカテコールとセサミンジカテコールの大量生産が期待できます

国立大学法人筑波大学 生命環境系 小林 達彦教授の研究グループは、ゴマ由来の生理活性物質であるセサミンを代謝する微生物を同定し、セサミンをセサミンモノカテコールとセサミンジカテコールへと変換する酵素を発見しました。セサミンモノカテコールとセサミンジカテコールは、セサミンより強い抗酸化活性を示す有用な素材であることが知られています。

セサミンを分解する細菌の自然界からの同定は世界初です。さらに、本研究で得られたセサミン変換酵素SesAは、テトラヒドロ葉酸(THF)という補酵素を用いる反応によってセサミンに作用していることを解明しました。THFを利用してセサミンを分解する酵素も世界初の発見です。

SesA酵素は組換え大腸菌を用いて大量に調製可能です。SesAを用いることで、水溶液中、温和な条件下で効率良くセサミンからセサミンモノカテコール、セサミンジカテコールを合成する系を構築することができました。今後、両素材を大量に生産する扉が開かれることが期待されます。

本研究の成果は、2016年7月21日付「米国科学アカデミー紀要(PNAS)」で先行公開されました。

研究の背景

ゴマ(図1)はインドから東アジアにわたる地域を中心に古くから用いられてきた食材であり、高栄養食品としてだけでなく、文化的にも世界中に浸透しています。たとえば、「千夜一夜物語」中の一話『アリババと40人の盗賊』に出てくる有名な合い言葉は「開けゴマ」(英語では「Open sesame」)であるし、日本でも人気を博したアメリカの子供向け番組セサミスト리트の「セサミ」も「ゴマ」です。

ゴマは、有用な生理活性物質であるセサミンを豊富に含む食材として近年注目されています。生理活性物質とはヒトなどの生体に対して何らかの生理的な作用を及ぼす物質のことで、セサミンの場合は、抗酸化活性、エストロゲン(女性ホルモン)様活性、アルコール代謝促進、コレステロール代謝の抑制などが報告されています。ヒトがゴマを摂取するとセサミンは肝臓においてP450酵素¹⁾の一種によって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されます。

セサミンはゴマの種子に多く含まれるため、自然界において栽培されたゴマ植物が枯死する等で地面に落ちると、そこに生息する微生物による分解が行われることが予想できます。ところが、これまでに見つかったセサミンを分解する微生物としては、アスペルギルス属のカビの1種での報告があるのみで、微生物における分解酵素や遺伝子

については全くわかっていませんでした。そこで本研究グループは、セサミンを分解する微生物を広く自然界から探し出し、その分解経路や分解酵素・遺伝子を明らかにすることを目指して研究を開始しました。

研究内容と成果

小林教授らはまず、炭素源としてセサミンのみを含む培地(以下、セサミン最小培地)を用いて、土壤中からセサミンを分解する菌の培養を試みました。その結果、セサミン最小培地で生育する細菌が7株得られ、その中で最も活性の強かった株としてシノモナス属の1種(以下 No.22 株)を確認しました。

大村智北里大学特別栄誉教授の 2015 年ノーベル生理学・医学賞受賞対象となった研究に見られるように、放線菌は薬となる種々の生理活性物質を生産するユニークな代謝酵素を多数有する菌群として知られています。今回、セサミン代謝酵素を初めて単離することに成功した No.22 株(シノモナス属)も、放線菌の1種です。

続いて、No.22 株より、セサミン代謝酵素の精製を試みました。No.22 株から当初調製した無細胞抽出液の活性は高くはありませんでした。しかし、部分精製の後、N 末端部分アミノ酸配列を決定し、対応する塩基配列を No.22 株の染色体から見いだしました。このアミノ酸配列をもとに相同性検索を行ったところ、本酵素がテトラヒドロ葉酸 (THF)を補酵素として用いる可能性が高いことがわかりました。そこで、無細胞抽出液に THF を添加したところ、活性が 350 倍に上昇しました。それまでは活性が低く、部分精製しかできませんでしたが、THF を加えることで活性が精製過程を通じて維持できるようになり、セサミン代謝酵素を単一に精製することができました。この酵素を SesA と命名しました。精製した SesA を用いてセサミン変換反応を行ったところ、SesA はセサミンのメチレン基を THF に転移させる反応を2回触媒し、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しました(図 2)。また、No.22 株を「セサミンを含む培地」と「含まない培地」で生育させたところ、SesA はセサミンが存在するときのみ発現する誘導酵素であることがわかりました。すなわち、No.22 株は SesA によって生理的にセサミンを代謝していることが示唆されました。

続いて、SesA 遺伝子(*sesA*)をクローニングし、大腸菌に組み込みました。形質転換したこの大腸菌を用いて SesA の大量発現にも成功しました。SesA のセサミンに対する K_m 値²⁾を求めたところ、0.032 mM と十分低く、自然界においてもセサミンを代謝することが可能であると考えられました。前述した、肝臓でセサミンを代謝する P450 酵素と SesA の活性の強さを比較すると、SesA の方が 200 倍程度高いことがわかりました。

また、基質特異性についても検討したところ、セサミンだけでなくセサミンの立体異性体であるエピセサミン、アサリニンや、セサミン同様、ゴマ種子に含まれるセサミノールやセサモリンに対しても SesA は活性を示しました。

今後の展開

本研究では、セサミンを分解する微生物を世界で初めて自然界から見いだしました。さらには、これまでセサミン代謝酵素として知られていた P450 酵素とはアミノ酸配列相同性の全くない新規セサミン代謝酵素を同定することができました。この酵素遺伝子のホモログ(相同遺伝子)は他のグラム陽性、陰性細菌にも見つかることから、それらがどのような働きをしているのかの検討が期待されます。

同酵素の遺伝子が大腸菌に組み込むことにより、セサミンよりも活性の高いセサミンモノカテコール、セサミンジカテコールを大量に生産する可能性が開けました。

参考図



図1 高栄養食品として知られるゴマ

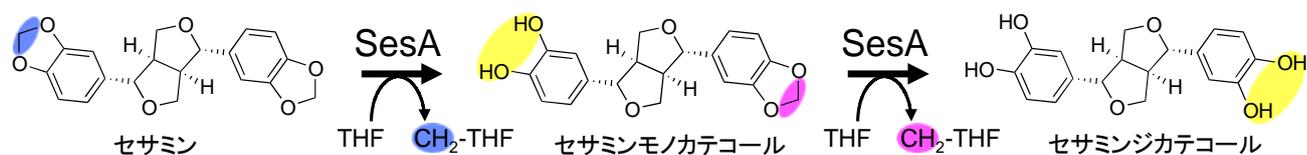


図2 微生物がもつ代謝酵素 SesA によるセサミンの代謝

用語解説

注1) P450 酵素

シトクローム P450 酵素と呼ばれる、酸化還元反応を触媒する酵素の一群。ヒトの場合、肝臓などで多数発現しており薬物代謝など様々な化合物の分解・合成に関わっていることが知られている。

注2) K_m 値

酵素と基質の親和性を表す数値。値が小さい程、酵素はその基質と結合しやすく、基質濃度が低くても反応が進む。

掲載論文

【題名】 Discovery of a sesamin-metabolizing microorganism and a new enzyme

(セサミンを代謝する微生物と新規酵素の発見)

【著者名】 Takuto Kumano, Etsuko Fujiki, Yoshiteru Hashimoto, and Michihiko Kobayashi,

(熊野匠人、藤木恵津子、橋本義輝、小林達彦)

【掲載誌】 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

doi: 10.1073/pnas.1605050113

問い合わせ先

熊野 匠人 (くまの たくと)

筑波大学 生命環境系 助教

小林 達彦(こばやし みちひこ)

筑波大学 生命環境系 教授