

乳酸菌における不飽和脂肪酸の飽和化反応に関わる鍵酵素の発見

Discovery of the key enzyme for the saturation of unsaturated fatty acids in the lactic acid bacteria

○岸野重信^{1,2}、横関健三²、清水昌^{1,3}、小川順¹ (¹京大院農・応用生命、²京大院農・産業微生物、³京都学園大・バイオ環境)

○Shigenobu Kishino¹, Kenzo Yokozeki¹, Sakayu Shimizu^{1,2}, Jun Ogawa¹ (¹Kyoto Univ.、²Kyoto Gakuen Univ.)

【目的】 乳酸菌は、古来よりヒトと関係の深い微生物であり、現代においてもプロバイオティクスの観点から食品分野や医薬品分野において注目を集めている微生物である。特に、乳酸菌の脂肪酸代謝は、腸内細菌の生理学的・栄養学的機能に重要な役割を担うと予想されるにもかかわらず、詳細に検討した研究はこれまでほとんど存在していない。

そこで我々は、乳酸菌の脂肪酸代謝解明を目的とし、不飽和脂肪酸変換能が高い乳酸菌の探索を行った。その結果、リノール酸 (*cis*-9, *cis*-12-18:2) を効率よく共役リノール酸 (*cis*-9, *trans*-11-18:2, *trans*-9, *trans*-11-18:2) へと変換する乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* を取得した。以前より、嫌気性細菌における不飽和脂肪酸代謝の1つとして、二重結合の共役化を経る飽和化反応が報告されていたことから、本菌におけるリノール酸の共役リノール酸への変換に関わる酵素の同定および反応機構の解析を起点とする飽和化反応系の解明に取り組んだ。その結果、リノール酸から共役リノール酸への反応は、見かけ上は二重結合の転移反応であるが、水和・脱水、酸化・還元、二重結合の転移など3つの酵素が関与する複数の反応から成り立っていることを世界で初めて明らかにした。さらに、共役化酵素とリンクする飽和化酵素の同定、ならびに飽和化反応経路の解明に成功した。

【方法・結果】 我々はリノール酸を効率よく共役リノール酸へと変換する乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* を取得し、その反応機構を詳細に解析した。その結果、本反応はリノール酸を水和して10-hydroxy-*cis*-12-18:1を生成する反応を初発に、水酸基の酸化、二重結合の異性化、水酸基への還元、脱水と複数の反応を介して共役リノール酸へと変換することを明らかにした。また、これらの反応を触媒する3種類の酵素 (CLA-HY, CLA-DH, CLA-DC) を同定し、さらに本酵素をコードする遺伝子配列を決定した^{1,2)}。続いて本菌のゲノム配列より、決定した遺伝子配列と関係が示唆される遺伝子配列 (*cla-er*) に注目し、CLA-ERを大量発現する形質転換大腸菌を作成した。作成した形質転換大腸菌より調整した精製酵素CLA-ERを用い、本酵素の機能解析を行ったところ、本酵素は乳酸菌における不飽和脂肪酸の飽和化反応の鍵酵素であることを明らかにした。本酵素は、飽和化代謝中間体の分子内エノン構造を認識し、二重結合を単結合へと飽和化する反応を触媒することを明らかにした。

1) S. Kishino et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75 (2), 318-322 (2011)

2) S. Kishino et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 416, 188-193 (2011)