

講演番号：3E2a11

講演日時：3月26日 11:10～ 1号館 E2 会場

環状イミン構造を有する β -カルボリンアルカロイド分解酵素の発見

Discovery of the β -carboline alkaloid-degrading enzyme

永久保 利紀¹、○熊野 匠人¹、太田 雄大²、橋本 義輝¹、小林 達彦¹ (¹筑波大院・生命環境、²山陽小野田市立山口東京理科大学・工学部)

Toshiki Nagakubo¹, ○Takuto Kumano¹, Takehiro Ota², Yoshiteru Hashimoto¹, Michihiko Kobayashi¹ (¹Grad. School of Life and Environ. Sci., Univ. of Tsukuba, ²Sanyo-Onoda City University)

【背景・目的】

β -カルボリンは、トリプタミンに由来する化合物であり、インドールアルカロイドに分類される。 β -カルボリン骨格を有する化合物は自然界に普遍的に存在しており、その多くが顕著な生理活性を示す。例えば、 β -カルボリン骨格を有する比較的単純な構造のアルカロイドの一種であるハルマリンは、ヒトを含む動植物に広く見出されており、モノアミンオキシダーゼの活性を阻害し向精神作用を示すことから、古来より世界各地で幻覚剤の成分として用いられてきた。しかしながら、自然界におけるその普遍性にもかかわらず、ハルマリンを含む β -カルボリンアルカロイドの微生物による代謝経路は全く解明されておらず、また、 β -カルボリンの部分構造である環状イミンの分解代謝も全生物を通じて分かっていない。そこで本研究では、ハルマリンを代謝する微生物を土壌からスクリーニングし、本代謝経路の解明および代謝酵素の取得と機能解析を目的とした。

【方法・結果】

ハルマリンは、蔓性植物 *Peganum harmala* の根および種子に特に多く含まれている。そこで、この植物の根付近の土壌より、ハルマリン代謝微生物の単離を試みた。具体的には、ハルマリンを単一炭素源または窒素源とする最少培地に上記の土壌を接種し、28℃で数日間振盪培養した。その後、新しい培地への植継ぎを繰り返して集積培養を行い、同組成の寒天培地に植菌した。生育してきたコロニーをさらに植継ぎ、菌の単離を行った。その内、1株を選抜し、大量培養後、超音波処理により無細胞抽出液を調製し、各種クロマトグラフィーを用いて、ハルマリン代謝酵素を SDS-PAGE 上で単一になるまで精製した。N 末端部分アミノ酸配列を解析した結果、本酵素は銅含有アミノオキシダーゼと相同性を示すことが判明した。本酵素は活性中心に 2,4,5-トリヒドロキシフェニルアラニルキノン (TPQ) を有し、ハルマリンの環状イミン構造を酸化的に開裂した。本発表では本酵素の諸性質（酵素動力学定数など）および反応機構について考察する。本研究では、自然界に広くみられる環状イミン構造を開裂する酵素を初めて同定するとともに、細菌からヒトに至るまで、ほぼ全ての生物が有する銅含有アミノオキシダーゼの新規酵素活性を明らかにした。

(本成果は現在、*Nature communications* に投稿中)

cyclic imine, copper amine oxidase, harmaline