

# 琉球大学学術リポジトリ

## ギンネム群落土壌から分離した細菌のミモシナーゼ インヒビター

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山城, 紀子, 石原, 昌信, 多和田, 真吉, 平良, 東紀, 当山, 清善 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016661">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016661</a>

# ギンネム群落土壌から分離した細菌のミモシナーゼインヒビター

琉球大学 農学部 生物資源科学科

○山城 紀子、石原 昌信、多和田 真吉、平良 東紀、当山 清善

M2.

## 【目的】

沖縄県内に広く自生している熱帯性マメ科植物ギンネムの茎葉部および種子中に多量に存在しているミモシンは、家畜に対して毒性が認められている。また、ミモシンはアレロパシー作用を有していることから、ギンネムの群落形成に関与しているものと考えられているが、落葉後雨水によって抽出されたミモシンの土壌中への過剰な蓄積は、ギンネム自身の発芽や初期生長に影響を及ぼすことが報告されている。従って、ギンネム群落土壌においては、ミモシン資化性微生物の作用によってミモシン含量が調節されているものと推測される。

演者らは、ギンネムの群落形成に及ぼすミモシンの影響について明らかにすることを目的として、ギンネム群落土壌中からミモシン資化性の高い細菌 (D6-27 菌株) を分離し、本菌株の産生するミモシン分解酵素 (ミモシナーゼ) に関する研究を実施中である。ギンネム由来のミモシナーゼについては、酵素化学的性質が明らかにされつつあるが、細菌の産生する同酵素に関する研究例は極めて少ない。一方、本分離細菌がミモシナーゼとともにミモシナーゼインヒビターを産生することが本研究室において見いだされた。

本研究では、細菌起源ミモシナーゼの特性の解明に資する目的で、本インヒビターの諸性質について調べるとともに、インヒビターの精製を行い、若干の知見を得たので報告する。

## 【方法】

菌の培養は 0.05% ミモシンを含む培地に前培養菌体を接種した後、30°C で 24 時間振盪して行った。酵素液の抽出は、培養菌体を磨砕した後、3 倍量の 10mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて行い、遠心分離後に得られた上清液を同緩衝液に対して一昼夜透析を行い、粗酵素液として用いた。インヒビターの調製は、無細胞抽出液を 10 分間煮沸処理した後、遠心分離することによって行った。酵素反応はミモシン 50  $\mu$ l とともに、ミモシナーゼ 100  $\mu$ l を加えて pH 8.0、37°C で 30 分間保持して行い、15% 5-スルホサリチル酸を加えることにより反応を停止させた。インヒビター活性の測定は、酵素反応混液にインヒビター 100  $\mu$ l を加え、残存するミモシナーゼ活性を測定することにより行った。インヒビターの精製は、硫酸分画後、DEAE-セルロース、Sephadex G-50 及び Bio gel P-2 カラムクロマトグラフィーを組み合わせて行った。

## 【結果】

分離細菌の産生するミモシナーゼインヒビターは、熱に対して安定な低分子化合物であった。本インヒビターはメタノールに可溶化されたが、クロロホルム、酢酸エチル、エタ

ノール及びジエチルエーテルには難溶性であった。インヒビター活性に及ぼす培地中のミモシ濃度の影響について調べた結果、インヒビター活性は培地中のミモシン濃度が 0.05% の時、最も高い値を示した。本インヒビターは分離細菌由来のミモシナーゼを顕著に阻害したが、ギンネム葉から調製されたミモシナーゼに対する阻害活性は認められなかった。上記カラムクロマトグラフィーにより粗インヒビター液から 6 種類のミモシナーゼインヒビターが精製された。精製インヒビターは、pH1.0 で 30 分間煮沸処理しても約 85% の活性を保持していた。

透せキ