

酵母を利用した和漢薬の品質評価に関する研究

電子技術課 浅田峯夫 高田耕児 牧村めぐみ 横山義之

1. 緒言

和漢薬は天然物由来であり、多種多様な成分が含まれているため、その作用は複雑である。和漢薬の品質評価においては、HPLCによる成分分析が有効であるが、高額な機器と多くの時間を必要とする。また、HPLCにより活性成分をすべて分離できるとは限らないため、別の側面から評価する方法が必要と考えられる。本研究では、簡易かつ安価な和漢薬の品質評価キットを開発することを目的とし、その第一段階として、ノックアウト酵母を用いて生薬の違いを評価できるかを検討した。生薬の成分と酵母の遺伝子産物との間に関係がある場合、この遺伝子をノックアウトした酵母は生薬の添加により増殖活性が変化する可能性がある。

2. 実験方法

ノックアウト酵母はオープンバイオシステムズより購入し、そのうち、ヒトの病気と関連した遺伝子に配列が類似している酵母の遺伝子¹⁾をノックアウトした酵母 89 種について検討した。また、和漢薬は、富山大学和漢医薬学総合研究所より提供していただいた 80 種の熱水抽出和漢薬エキスのうち、79 種について検討した。すなわち $89 \times 79 = 7031$ 通りについて検討を行った。

実験は次のように行った。89 種のノックアウト酵母を 96 ウェルプレートで培養した。25°C で約 12 時間静置培養した後にシェーカーで懸濁させ、プレートリーダーにより各ウェルの濁度を測定した。和漢薬の濃度は、予備実験においていくつかの酵母で増殖抑制効果の見られた 0.2mg/mL とした。和漢薬を含む培地で測定した濁度を、和漢薬を含まない培地で測定した濁度で割った濁度比をそれぞれのノックアウト酵母について算出して比較した。

3. 実験結果および考察

Fig. 1 に桂皮を添加した場合の各ノックアウト酵母の濁度比を示す。桂皮を添加することで、1 種のノックアウト酵母が著しく増殖抑制を受けることがわかる。また、桂皮の他に、大黃・丁字でも同じノックアウト酵母の増殖が抑制された。これらの和漢薬は、このノックアウトされた遺伝子と何らかの関係があるため、このノックアウト酵母はこれらの和漢薬の評価に利用できる可能性がある。今後、この遺伝子と和漢

薬の関係について検討する予定である。

黄柏、黄連については、ノックアウト遺伝子によらず、酵母の増殖を抑制した。この 2 生薬にはベルベリンなどのアルカロイド成分が共通して含まれており、これが酵母の増殖を抑制したのと考えられる。

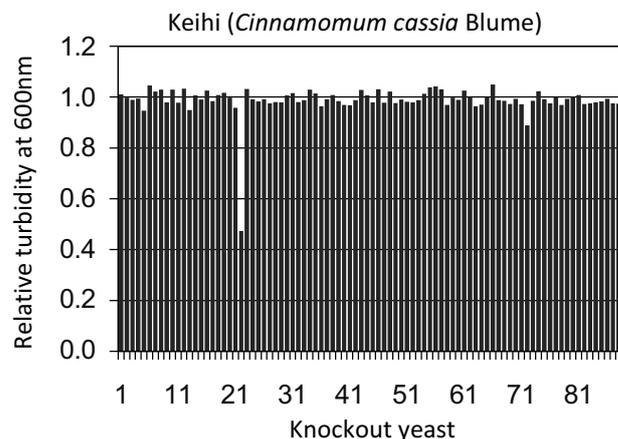


Fig.1 Effects of Keihi (*Cinnamomum cassia* Blume) on knockout yeasts.

今回測定した 79 種の和漢薬のうち、69 種については、89 種の酵母の濁度比の平均値が 1 ± 0.05 の範囲であった。このことは、これらの和漢薬は、今回使用した濃度において酵母の増殖にはほとんど影響をあたえないことを示している。またこれだけ平均値が安定していることは、本手法の精度の高さを示しているといえる。また、79 種の和漢薬のうち、75 種については、89 種の酵母の濁度比の標準偏差が 0.05 以下であった。このことは、これらの和漢薬は、今回使用した濃度において、遺伝子ノックアウトの影響が見られないことを示している。またこれだけ標準偏差が低いことは、本手法の精度の高さを示している。

今後、和漢薬の濃度を最適化し、より多くのノックアウト酵母を検討することで、生薬の違いにより増殖が変化するノックアウト酵母が多数得られると考えられ、これを利用して生薬の違いを評価する手法が開発できると考えられる。

「参考文献」

1) F. Foury : Gene **195**, 1-10 (1997).

終わりに、本研究推進にあたり数多くご指導を頂いた富山大学 小松かつ子教授、櫻井宏明准教授に深く感謝致します。