

安定同位体プロービングを用いて、澱粉消化に特異的な活性を示す微生物種の同定。

概要

食品における澱粉の潜在的な有益性と有害性についての効果は、その消化と発酵特性 (Topping 等、(2003)) に依存しています。澱粉の一部である抵抗澱粉 (RS) は消化されず、大腸で発酵します。RS は、乳酸桿菌属乳酸菌とビフィドバクテリウム種のような特定のプロバイオティクバクテリアの成長を刺激することによって、結腸でプレバイオティク効果があるかもしれません。しかし、結腸のマイクロフローラのどの種類が、そこで澱粉代謝に関わっているかは、まだ解明されていません。

安定同位体によるソリューション：¹³C 標識バイオマーカー

精製されるか自然のままの食品マトリックスからの RS または異なった植物種からの構成要素から出来た ¹³C 標識プレバイオティクスは、消化と発酵特性を定量化するために人間や動物の食物として用いることができます。高濃度 ¹³C により、長期間 TIM のようなシステムで生体外または生体内のどちらかの条件で微生物の個体数の分析を可能にします (TNO gastro-Intestinal Models;www.tno.nl)。発酵プロセスに関係する活動的な微生物種は、糞便からの抽出か ¹³C-DNA を分析することによって同定することができます。安定同位体プロービング(SIP)と呼ばれるこの手法は、生態学で有益な方法として使われました (Boschker 等 (1998) ;Radajewski 等、(2000))。さらに ¹³C-RNA 分析 (Manfield 等 (2002)) に発展し、TIM で Isolife 社が製造したユニホーム標識されたジャガイモ澱粉を用いて RNA-SIP で使われ、有益な結果を得ました (図 1)。

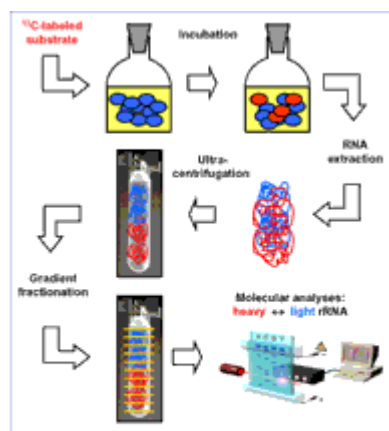


FIGURE 1: THE PRINCIPLE OF RNA-BASED STABLE ISOTOPE PROBING (RNA-SIP).

図 1. RNA-SIP の概要 (Kovatcheva-Datchary 等、(2005))

結果

澱粉を代謝している機能性を持つプロバイオティクな微生物種の刺激と澱粉のプレバイオティク効果に繋がる刺激は RNA-SIP やその後の ¹³C-RNA 分析で測定できます。

16S rRNA による活性がある澱粉消費菌の違いを確認することは、異なった制限酵素での Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) 指紋鑑定を使って研究されました。

指紋は、Bifidobacteria を澱粉消費菌と推定されるそれぞれの T-RF' s での増加を示しました。
(Kovatcheva-Datchary, 2005; [Award winning publication](#))。

引用

Boschker HTS, SC Nold, P Wellsbury, D Bos, W de Graaf, R Pel, RJ Parkes, TE Cappenberg. 1998.
Direct linking of microbial populations to specific biogeochemical processes by ¹³C-labelling
of biomarkers.

Nature 392: 801-805

Kovatcheva-Datchary P, M Egbert, A Maathuis, H Smidt, WM de Vos, K Venema. 2005.

Which bacteria metabolise starch in the human colon?

Poster presentation Biomedicine in the Post-Genomic Era, Dec 1-3, Mexico City.

Manefield M, AS Whiteley, N Ostle, P Ineson, MJ Bailey. 2002.

Technical considerations for RNA-based stable isotope probing.

Rapid Communications in Mass Spectrometry 16: 2179-2183.

Radajewski S, P Ineson, NR Parekh, JC Murrell. 2000.

Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology.

Nature 403: 646-649.

Schell M. 2002.

In: Friendly tenants in the human gut: The genome of *B. longum*. Ed. B. Reinert.

www.genomenetwork.org/articles/10_02/bifido.shtml

Kovatcheva-Datchary P, M Egbert, A Maathuis, M Rajilic-Stojanovic, AA de Graaf, H Smidt, WM de
Vos, K Venema. 2009.

Linking phylogenetic identities of bacteria to starch fermentation in an *in vitro* model of the
large intestine by RNA-based stable isotope probing.

Environmental Microbiology xxx: x-x. doi:10.11/j.11462-2920.2008.01815