

## Bisphenol A を配糖化するタバコの Glucosyltransferase の性質

大島幸子 中嶋信美 芹澤滋子、永野公代、John.S.Edmonds、森田昌敏  
国立環境研究所

[目的] 我々はタバコ液体培養細胞によって Bisphenol A(BPA)が 3 つの代謝物へ代謝されることを報告し、代謝物の 1 つが BPA-*o*- $\beta$ -D-glucoside(BPAG)であることを同定した。本研究は BPAG を生成する酵素の活性(BPAGTase)と BPA 吸収代謝の関係を調べる目的で、タバコ培養細胞 BY-2 細胞の BPAGTase の性質を調べた。

[方法] ①2 週間培養したタバコ細胞(*Nicotiana tabacum* cv. BY-2)を濾過し、細胞を等量の抽出 Buffer (50mM Tris-HCl pH7.5, 4  $\mu$  M 2-mercaptethanol, 0.5  $\mu$  M PMSF)と、PVPP 0.5g、石英砂 1g を入れすりつぶした。遠心後の上澄みを、あらかじめ反応 Buffer で平衡化した脱塩カラムに通し、溶出液を酵素液とした。酵素液 200  $\mu$  L に、UDP-Glucose(UDPG)を最終濃度で 1mM, BPA は最終濃度で 50~500  $\mu$  M になるように加え 30°C で 10 分インキュベートした。この後、反応を停止するために 20  $\mu$  L の過塩素酸を加えた。不溶性物質を遠心除去し、上清を 20  $\mu$  L 取り HPLC で生成した BPAG を定量し、 $k_m$  値を求めた。タンパク定量は Lowry 法で行った。

②生育日数およそ 3~4 週間のタバコ植物体(Xanthi NC)を根、茎、葉に分け、各組織を液体窒素で凍結後細かく砕き、①と同様の方法で酵素液を調製した。酵素活性は 3 反復、酵素液は 185  $\mu$  L、BPA は 493  $\mu$  M、UDPG は 1mM となるよう計 200  $\mu$  L に調製した。30°C でインキュベートし、30 分反応させたのち①と同様の方法で生成した BPAG を定量した。

[結果と考察] ①タバコ培養細胞由来の BPAGTase の BPA に対する  $k_m$  は 82  $\mu$  M であった。この値は、既にタバコから精製されている、他の Glucosyltransferase と同等の値であった。また比活性 130n mol/mg/h であった。

②BPAGTase 活性はタバコ植物体(Xanthi NC)にも存在し、根の同酵素の比活性は 156p mol/mg protein/h、葉でのその比活性は 639p mol/mg protein/h、茎でのその比活性は 237pmol/mg protein/h で葉では根の約 4 倍、茎の 3 倍の活性が見られた。以上の結果、タバコ植物体にも BPAGTase が存在し、主に葉で働いて BPA を BPAG に代謝して、無毒化しているものと考えられる。

### Identification of Bisphenol A-*o*- $\beta$ -glucosyltransferase activity in tobacco cells.

Oshima Yukiko, Nakajima Nobuyoshi, Kimiyo Nagano, Serizawa Shigeko, John.Spencer.Edmonds, Morita Masatoshi  
National Institute for Environmental Studies, Japan

It has been demonstrated that bisphenol A (BPA) is metabolized to BPA-*o*- $\beta$ -D-glucopyranoside (BPAG) in the tobacco seedlings (*Plant Cell Physiol.* 43: 1036-1042, 2002). This reaction may be catalyzed by BPA specific glucosyltransferase (BPAGTase). In this study, we identified BPAGTase activity in cell-free extract of both tobacco suspension cultured cells (*Nicotiana tabacum* cv. BY-2) and seedlings (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi NC).  $K_m$  of BPAGTase for BPA was 82  $\mu$  M. This value was equivalent to those of other plant glucosyltransferases. Specific activity in the leaves was 4 fold higher (639 pmol/mg protein/h) than that in the roots. Our results indicated that tobacco plants have BPAGTase to metabolize to BPA and leaf tissue may be mainly responsible for the  $\beta$ -glucosylation.