

## 第33回麻布環境科学研究会 一般演題4

## コーヒー豆による A群レンサ球菌産生溶血毒素阻害能の検討

○松田 具宜, 曾川 一幸, 鈴木 潤

麻布大学 生命・環境科学部 食品生化学研究室

### 【背景・目的】

近年、細菌やウイルスによる食の安全・安心を脅かす事件が後を絶たない。レンサ球菌もまれに食中毒を引き起こす。お茶の成分であるカテキンは、ポリフェノールの一種で、抗菌・殺菌作用、抗ウイルス作用、および抗毒素作用など幅広い効果をもつことで注目されている。ポリフェノールとは、化学構造中に複数のフェノール性ヒドロキシ基が含まれる物質の総称で植物界に広く分布している。すでに、カテキンやそれに類似した構造を持つネオヘスペリジンジヒドロカルコン (NHDC) はA群レンサ球菌の産生する溶血毒素に対して中和能があることを当研究室で報告されている。

本研究では、コーヒー豆 (生豆) 中のポリフェノールであるクロロゲン酸に注目し、A群レンサ球菌産生ストレプトリジンO (SLO) であるP-2毒素に対して、生豆 (ブラジル産) の溶血阻害能をマイクロタイター法 (MT法) と試験管法により検討した。

### 【方法】

試料調製：試料はブラジル産の生豆を用いた。生豆をミルサーで粉碎し、生豆20gを80mlのPBSを用いて室温で3時間浸出した後、濾紙に通し、10%NaOHでpHを7.0に修正した。

これを14,700rpm、15分間遠心して得た上清をメ

ンブレンフィルター (Acrodisc® PF Syringe Filter with 0.8/0.2µm Supor® Membrane) で濾過して得た生豆の20% (W/V) 溶液を生豆抽出液とした。

実験方法：SLO (P-2) 毒素に2.5%ウサギ赤血球浮遊液を用いて試験管法 (log0.3希釈) により、保温 (37°C, 1時間) した後、遠心分離 (2500rpm, 15分, 4°C) し、その上清に2%塩酸アセトンを加え、吸光度 (510nm) を測定した。完全非溶血を対照とし、完全溶血の値を100%として、それぞれの試験管の溶血率を算出し、50%終点法により毒素の力価を得た。

また、溶血力価は3回の平均値より求めた。さらに、試料を加えた時の阻害率 (%) は試料非添加時の力価で除して算出した。

### 【結果】

SLOである毒素P-2の溶血力価は $4.11 \times 10^3 \text{HD}_{50}/\text{ml}$ であった。次に、生豆抽出液による溶血阻害率は、0µlで0%、50µlで30.4%、100µlで54.5%、150µlで65.7%、および200µlで71.5%であった。

### 【結語】

A群レンサ球菌が産生する毒素SLOに対して生豆抽出液は溶血阻害能が用量依存的にあることが示された。現在、コーヒーの実 (コーヒーチェリー) 抽出液からも溶血阻害能があるかを検討している。