

31-0650

カンゾウ培養細胞におけるトリテルペノイド水酸化酵素遺伝子の機能解析

○藤田 貴教¹, 林 宏明¹, 中林 裕二¹, 井上 謙一郎¹, 飯沼 宗和¹ (¹岐阜薬大)

【目的】カンゾウ(*Glycyrrhiza glabra* L.)には、グリチルリチンとソヤサポニン二種類のオレアナン型トリテルペノイドサポニンが局在しており、その生合成機能の解明は多様な二次代謝産物の効率的生産を進める上で重要な知見をもたらすと考えられる。これまで、カンゾウのトリテルペノイドサポニン生合成の分岐点に位置する β -アミリン合成酵素の酵素遺伝子についてはすでに単離されているが、それ以降のトリテルペノイド水酸化酵素(TH)遺伝子については不明であった。そこで今回、カンゾウ培養細胞から TH 遺伝子をクローニングして解析した。

【方法・結果】これまでに、マメ科のモデル植物であるミヤコグサから同定されたオレアナン型トリテルペノイドの 24 位を特異的に水酸化する TH 遺伝子(LjT24H)¹⁾をプローブとしてカンゾウ培養細胞由来の cDNA ライブラリーをスクリーニングし、陽性クローンを得た(GgT24H)。この全配列を決定し、推定されるアミノ酸配列を LjT24H 遺伝子がコードするアミノ酸配列と比較したところ、85%の相同性を示した。次に、GgT24H 遺伝子産物の酵素機能を確認するために、酵母発現ベクターを作成した。これを形質転換した酵母にグリチルレチン酸を投与し、その変換物を HPLC で分析したところ、グリチルレチン酸の 24 位が水酸化された 24-ヒドロキシグリチルレチン酸を検出した。また、カンゾウ培養細胞に各種エリシターを投与しノーザンブロット解析を行ったところ、GgT24H 遺伝子の mRNA 発現パターンは、カンゾウのオキシドスクアレン閉環酵素の一つである β -アミリン合成酵素遺伝子の mRNA 発現パターンと類似するパターンを示した。

1)林ら、第 22 回 日本植物細胞分子生物学会秋田大会 講演要旨集 p153 (2003)