

27H-am06

ダイズ由来トリテルペン配糖化酵素のクローニングと機能解析

○西村 和哉¹, 渋谷 雅明¹, 海老塚 豊¹(¹東大院薬)

【目的】トリテルペンサポニン¹は生薬の代表的な有効成分の一つであり、オキシドスクアレンから閉環、水酸化、配糖化の3段階の反応を経て生合成される。我々はトリテルペンサポニン生合成の全容の解明を目的に生合成酵素遺伝子の探索を行なっている。今回、ダイズ (*Glycine max*) のトリテルペンサポニンであるソヤサポニンの生合成に関与する配糖化酵素について検討を行なったので報告する。

【方法、結果】我々は、ダイズの EST データベースを基に、ダイズに特異的かつ高発現している糖転移酵素クローン 8 個 (GTX-1-GTX-8 と命名) を選択し、その全長配列を決定した。各クローンを大腸菌で発現して得た粗酵素画分を用いた *in vitro* の酵素反応により、GTX-2 をソヤサポゲノール B モノグルクロナイド (SBMG) -ガラクトース転移酵素 (GmUGT2 と命名)、GTX-1 をソヤサポニンⅢ-ラムノース転移酵素 (GmUGT3) と同定し、昨年²の年会で報告した。今回、GTX-3-GTX-8 の 6 種のクローンについて酵素活性を検討した。前回と同様に、大腸菌で発現した各クローンの粗酵素画分を用いて酵素活性を検討したところ、GTX-4 は、SBMG と UDP-グルコースを基質とした反応で、SBMG に 1 分子及び、2 分子のグルコースが結合した生成物を与えた。ダイズには、第三糖がグルコースであるソヤサポニンⅤは報告されているが、第二糖がグルコースであるものや、22 位、24 位にグルコースが結合したものは報告されていない。GTX-4 はソヤサポニンⅤの生合成に寄与している可能性が高く、現在、GTX-4 のソヤサポニンⅢに対するグルコース転移活性を検討中である。一方、第一段階のグルクロン酸転移酵素については、これまでのところ同定に至っておらず、現在、大腸菌で活性が見られなかったクローンの酵母での発現を検討している。