

30E-pm05

In situ UDP-glucose 再生系の存在下での二次代謝糖転移酵素の機能解析

○水谷 優希¹, 二宮 嘉規¹, 永津 明人², 寺坂 和祥¹, 水上 元¹(¹名市大院薬,
²金城学院大薬)

【目的】植物は低分子有機化合物の糖転移反応を触媒する多様な配糖化酵素を有しており、組換え酵素を用いた機能解析が進んでいる。しかし、試験管内での反応系では酵素阻害剤である UDP が蓄積するために、実際の細胞内での配糖化機能を反映していない可能性がある。我々は、これまでに UDP と sucrose から UDP-glucose を再生する sucrose synthase (SUS) を用いた one-pot two enzyme system を構築し、配糖化反応の効率化を行ってきた。本研究では、この UDP が除去される系をカップリングした条件下で、配糖化酵素の機能を解析した。

【方法と結果】ニチニチソウの配糖化酵素 CaUGT2 とシロイヌナズナの AtSUS1 の共発現ベクターを作製した。得られた組換え酵素を用いて quercetin を基質とした配糖化反応を行い、sucrose 添加・非添加条件下での配糖化効率および配糖体組成を比較した。その結果、sucrose 添加によって配糖体生成量が大幅に増加しただけでなく、より長時間にわたって配糖化反応が継続し、非添加では見られない多様な quercetin 配糖体を生成した。また、コガネバナの F7GT (flavonoid 7-*O*-glucosyltransferase) を用いて、apigenin を基質として同様の検討を行ったところ、sucrose 添加条件下でのみ apigenin 5, 7, 4'-*O*-triglucoside を単一の生成物として見出した。一方、シロイヌナズナの UGT71C1 (flavonoid 7, 3'-*O*-glucosyltransferase) では、sucrose の添加によっても配糖化の新しい位置特異性は見出せなかった。これらの結果は、植物の配糖化酵素は細胞内では試験管内での反応以上の機能を発現している可能性があること、SUS を用いる in situ UDP-glucose 再生系は、配糖化酵素の多様な機能を明らかにする上で有用であることを示している。