

30E11-am05S

ミシマサイコにおけるサイコサポニン生合成機構の分子生物学的研究

野路 征昭¹, ○星野 佑弥¹, 岡田 岳人², 高橋 宏暢¹, 兼目 裕充¹, 関田 節子²,
豊田 正夫¹, 浅川 義範¹(¹徳島文理大薬, ²徳島文理大香川薬)

【目的】小柴胡湯などの漢方方剤に配合されている生薬「柴胡」の基原植物であるミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) について、次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行い、EST データベースを作成した。その情報をもとに薬用成分であるサイコサポニンの生合成に関与する酵素群の遺伝子の単離、解析を行うことで、サイコサポニン生合成の分子機構の全容解明を試みる。

【方法・結果】サイコサポニンは、スクアレンオキシドの環化により生じた β -アミリンが、シトクロム P450 により水酸化された後、糖転移酵素により配糖体化されるという経路により生合成されると考えられる。そこで、この生合成経路に関与する酵素の遺伝子を単離するために、ミシマサイコの葉と根より抽出した mRNA より cDNA を合成し、イルミナ社 Genome Analyzer IIx を用いて解析を行った。その結果、ミシマサイコの葉由来の cDNA から 3800 万リード以上、根では 3200 万リード以上、またいずれも 1 リードあたり平均 90 bp 以上の塩基配列を読み取ることができた。このようにして得られた大量の配列データについて、各種アセンブリソフトを用いて解析し、コンティグ配列を得た。このコンティグ配列を用いて BLAST による相同性検索を行い、サイコサポニン生合成に関与する酵素の候補遺伝子のクローニングに必要な様々な情報を得ることに成功した。例として、サイコサポニンは根に存在するため、根で生合成されると考えられるが、ミシマサイコの根では 140 のシトクロム P450 が発現しており、次世代シーケンサーの解析により得られたリード配列を用いた *in silico* 発現解析より、根で特異的に発現しているシトクロム P450 が 31 存在していることが予測された。現在これら候補遺伝子について全長配列のクローニングを試み、さらに解析を進めている。