

# 30L-am08

カンゾウ毛状根培養でのグリチルリチン酸生合成酵素遺伝子過剰発現によるグリチルリチン酸生成

○高上馬 希重<sup>1</sup>, 關 光<sup>2</sup>, 大山 清<sup>3</sup>, 金 尚永<sup>1</sup>, 村中 俊哉<sup>2</sup>(<sup>1</sup>北医療大薬, <sup>2</sup>阪大院工, <sup>3</sup>東工大院理工)

【目的】生薬「甘草（カンゾウ）」はマメ科多年生草本ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) などの地下部から得られる。主薬用成分はトリテルペンサポニンのグリチルリチン酸である。高品質な生薬甘草の供給には一定以上のグリチルリチン酸含有量が必要である。そのためグリチルリチン酸の生合成機構の解明は重要である。近年、カンゾウ属植物のグリチルリチン酸生合成酵素遺伝子の解明が精力的に進展しており、グリチルリチン酸生合成過程の上流前駆体  $\beta$ -amyrin から中間体 11-oxo- $\beta$ -amyrin にいたる酵素遺伝子 *CYP88D6* が見出された。本研究では *CYP88D6* 遺伝子の *G. uralensis* 植物体内での機能解析ならびに培養細胞でのグリチルリチン酸生産を目的として、*CYP88D6* 遺伝子を過剰発現する毛状根培養の作出に取り組んだ。

【方法】*G. uralensis* より単離した *CYP88D6* 遺伝子 cDNA を CaMV35S プロモーター下におき、*GFP* (*sGFP-S65T*) 遺伝子を選抜マーカーとしたパイナリーベクターを構築した。このベクターを *Agrobacterium rhizogenes* (ATCC15834) を介して *G. uralensis* への再導入を試みた。

【結果・考察】742 個の毛状根クローンを得て、GFP 緑色蛍光が認められる 121 クローンを選抜した (GFP 発現率: 16.3%)。選抜したクローンから増殖が旺盛な 14 クローンをさらに選抜した。グリチルリチン酸の定量分析を行った結果、コントロールに対して最大で4倍のグリチルリチン酸含有量を示す毛状根クローンを見出した。