

30L-am09

ニンニクのアリイン生合成に関与するフラビン含有モノオキシゲナーゼ遺伝子の単離と機能解析

○吉本 尚子¹, 水野 新也¹, 小沼 美沙都¹, 上山 正恵², 鎌田 庸宏², 今井 真介², 角 慎一郎³, 恒吉 唯充³, 斉藤 和季^{1,4} (¹千葉大院薬, ²ハウス食品, ³湧永製菓, ⁴理研PSC)

【目的】ニンニク (*Allium sativum*) はシス테인から *S*-酸化化合物であるアリイン (*S*-allyl-L-cysteine sulfoxide) を生合成し、細胞内に蓄積する。アリインや、細胞が障害を受けた時にアリインから生じる様々な硫黄化合物は、抗菌作用や発癌抑制作用、血小板凝集阻害活性等の薬理活性を有する。本研究ではアリイン生合成において *S*-酸化反応を触媒すると考えられるフラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) の遺伝子クローニングと機能解析を試みた。

【方法・結果・考察】ニンニクと同じくネギ属の植物であるタマネギの EST データベースから、*S*-酸化反応を行うことが知られている他植物由来の FMO 遺伝子と高い配列相同性を示す遺伝子断片配列情報を得た。その配列情報をもとに、RT-PCR および RACE の手法でニンニク由来 FMO 遺伝子 *AsFMO* の cDNA 全長配列を得た。*AsFMO* は、FMO 活性に必要な FAD 結合モチーフおよび NADP 結合モチーフを含む 457aa の FMO 様タンパク質をコードすると考えられた。酵素機能を同定するため、*AsFMO* のコード領域を組み込んだ発現ベクターを酵母に導入し、組換えタンパク質を発現させた。酵母のタンパク質粗抽出液を、推定基質 *S*-allyl-L-cysteine、NADPH、FAD と共にインキュベートした。反応生成物を HPLC で分析したところ、アリイン標品と保持時間が一致するピークが検出された。反応液に NADPH や FAD を添加しない場合は、このピークは検出されないことから、この反応は NADPH および FAD に依存的であるといえた。一方、空ベクターを導入した酵母から得たタンパク質粗抽出液を用いた場合は、アリインと考えられるピークは検出されなかった。以上より、*AsFMO* がニンニクのアリイン生合成において *S*-酸化反応を触媒するフラビン含有モノオキシゲナーゼをコードする遺伝子であることが示唆された。