

# 28AB-pm090

*Primula obconica* 由来ポリケチド合成酵素に関する研究

○三浦 朝子<sup>1</sup>, 黒崎 文也<sup>1</sup>, 田浦 太志<sup>1</sup> (<sup>1</sup>富山大学院)

【目的】トキワザクラ (*Primula obconica*) の接触皮膚炎原因物質 primin はポリケチドの olivetol を経由して生成すると考えられている。本研究では primin 生合成に関与するポリケチド合成酵素 (PKS) の cDNA クローニングを検討した。

【方法】トキワザクラの若葉及び花卉から RNA を抽出し、逆転写により一本鎖 cDNA を調製した。これを鋳型とした重複 PCR 法とそれに続く RACE 法により PKS をコードする cDNA の全長をクローン化した。次いで cDNA を発現ベクター pQE80L に組み込んで大腸菌で組換え酵素を調製し、精製した後酵素反応に供した。

【結果および考察】本研究では花卉より一種のカルコン合成酵素遺伝子を得るとともに、若葉より PoOLS (*P. obconica* olivetol synthase) と称する新規 PKS の cDNA をクローン化した。PoOLS は 391 アミノ酸からなり、既知植物 PKS との相同性は最大で 60%程度と、比較的ユニークな配列を持つことが確認された。また RT-PCR 解析から本酵素遺伝子は primin の主な蓄積器官である腺毛で最も発現していた。組み換え PoOLS を精製し、hexanoyl-CoA を開始基質とするアッセイを行った結果、本酵素は生成物の一つとして olivetol を合成したことから、primin 生合成経路の PKS と推察された。また本酵素と大麻 (*Cannabis sativa*) 由来の olivetolic acid cyclase (OAC) との共触媒により olivetolic acid が新たに生成し、olivetol 生成量が明らかに減少した。現在、PoOLS 単独、および OAC と組み合わせた反応での基質特異性について検討を行っている。

