

26PA-am009

モミジバダイオウからのアントラキノン配糖化酵素候補遺伝子のクローニング
○近藤 未来¹, 寺坂 和祥¹, 牧野 利明¹ (¹名市大院薬)

【目的】アントラキノン類は、キノン骨格を持つ天然物の中で大きなグループを占めており、高等植物や菌類、地衣類などに含まれている。これらは植物中では主に配糖体として存在しているが、その生合成を担うアントラキノン配糖化酵素については未だ不明である。そこで本研究では、様々なアントラキノン配糖体を有するダイオウ属植物を遺伝資源として用い、アントラキノン特異的な新規配糖化酵素遺伝子をクローニングすることを目的とした。

【方法・結果】生薬ダイオウの基原植物であるモミジバダイオウ(*Rheum palmatum*)の根茎および葉を実験材料として用いた。これらから抽出した total RNA より cDNA を調製し、これを鋳型として植物二次代謝糖転移酵素の高度保存領域である PSPG-box のアミノ酸配列を基にして設計した degenerate primer を用いて、homology-based クローニングによる 3'末端側配列の網羅的取得を行った。その結果、既知の配糖化酵素と相同性のある 3'末端側配列を 11 種類得た。それらの配列を基に、それぞれの配列に特異的な primer を設計し、5'RACE 法による 5'末端側のクローニングを行ったところ、全長 cDNA を 1 種類単離でき、これを RpUGT1(*Rheum palmatum* UDP-sugar glycosyltransferase 1)とした。この配列の分子系統学的解析を行ったところ、様々な基質特異性を有する既知の配糖化酵素グループに属することがわかった。現在、RpUGT1 を大腸菌発現系を用いて組換え酵素として発現させ、その粗酵素を用いてアントラキノン類アグリコンに対する配糖化活性の確認を進めている。さらに、モミジバダイオウ植物体の各器官におけるアントラキノン配糖体の含量の定量結果とともに、RpUGT1 遺伝子の器官別の発現についてもあわせて報告する。