

22PO-am062S

ウマノスズクサからの MATE トランスポーターの単離及び機能解析

○柏原 郁恵¹, 佐藤 文彦^{2,3}, 牧野 利明¹, 寺坂 和祥¹ (¹名市大院薬, ²京大院生命, ³大阪府大院理)

【目的】 アリストロキア酸 I (AA I) は、ウマノスズクサ属の植物に含まれるアルカロイドであり、腎毒性が報告されている。その構造から、DNA に結合して毒性を示すことが予想されるが、AA I を生産する植物に対しては毒性を示すことはない。そこで本研究では、AAI を全草に含むウマノスズクサ (*Aristolochia debilis*) を用い、アルカロイド輸送への関与が知られている MATE (multidrug and toxic compound extrusion) トランスポーターに着目し、その単離と機能解析を試みた。

【方法・結果】 ウマノスズクサの RNA-seq のデータから見出した MATE トランスポーター遺伝子 *AdMATE1*~*5* の cDNA を単離した。最初に、植物体各部位における *AdMATE1*~*5* の遺伝子発現をリアルタイム RT-PCR 法で解析した。その結果、*AdMATE1* は根において、*AdMATE2* は葉と根において、*AdMATE3*~*5* は葉において発現が高かった。AA I の含量を解析したところ、根に最も多く含まれており、*AdMATE1* の遺伝子発現と AA I の分布が相関していた。続いて、これら 5 分子種の ORF のみ、または ORF と YFP (yellow fluorescence protein) の融合遺伝子を組み込んだバイナリーベクター pRI201-AN をアグロバクテリウムに導入し、これをタバコ BY-2 培養細胞と共培養することで AdMATEs を発現する BY-2 培養細胞を得た。5 分子種の細胞内局在を、YFP 融合タンパク質を発現する BY-2 培養細胞を用いて検討した結果、AdMATE1 と 3 が液胞膜または細胞膜に、AdMATE2、4、5 が膜系以外にも局在していると推定された。同細胞系で AA I 添加実験を行ったところ、野生型の BY-2 培養細胞と比較して、AdMATE1~5 を発現する細胞における AA I 耐性は向上しなかったが、AdMATE3 または 4 を発現すると、細胞内の AA I 量が増加したことから、これらが AA I の液胞への輸送に関与する可能性が示された。