

22PO-am064

サイコサポニン生合成に関与する酵素遺伝子の探索

○中西 亜季¹, 野路 征昭¹, 西澤 奨¹, 兼目 裕充¹, 米山 達朗¹, 梅山 明美¹ (¹徳島文理大薬)

【目的】生薬「柴胡」の主要成分はサイコサポニン類で、 β -アミリンからシトクロム P450 による酸化や糖転移酵素による配糖体化を経て生合成される。これまでに当研究室において β -アミリンの 16 α 、23 および 28 位の水酸化を触媒するシトクロム P450 がそれぞれ同定されている。今回サイコサポニン A および C の生合成に関与する β -アミリンの 16 β 位の水酸化酵素およびその他のサイコサポニンの生合成に関与する酵素遺伝子の探索を行い、生合成経路の解明を試みた。

【方法・結果】次世代シーケンサーを用いて作成したミシマサイコの EST データベースを検索し、 β -アミリンの 16 β 位を水酸化すると報告のあったキキョウの CYP716A141 とのアミノ酸配列の類似性からシトクロム P450 の候補を 3 つ選び出し、その中でも根での発現が高い LRS9541 および R34716 の 2 つについて cDNA を単離し、これらを β -アミリンを生合成する酵母で発現させた。その代謝物を LC-MS で分析した結果、LRS9541 については 16 β 水酸化体が確認されたが、R34716 については β -アミリンに対する活性が確認できなかった。これらの結果より、ミシマサイコにおいて LRS9541 が 16 β 位水酸化活性を有する唯一の酵素である事が示唆された。次に、これまでに単離した β -アミリンに対する 16 α 、16 β 、23 および 28 位の水酸化を触媒する酵素について、根・茎・葉における遺伝子発現を解析したところ、その発現パターンの類似性が非常に高いことが判明した。このため同様な発現パターンを示すシトクロム P450 を選定し、それらの cDNA の単離及び解析を行うことで、さらなる水酸化酵素やサイコサポニンの生合成において 13 位と 28 位炭素間のエーテル結合形成に関与する酵素遺伝子、および糖転移酵素による配糖体化に関与する酵素遺伝子の探索を試みている。