

イネ培養細胞由来 UDP グルコース非依存性糖転移酵素 の生物有機化学的研究

生命分子化学講座 生命有機化学分野
宮澤吉郎

(背景と目的)

ツベロン酸 (TA, 12-ヒドロキシジャスモン酸) 及びツベロン酸グルコシド (TAG) はバレイシヨの塊茎形成誘導物質として単離された化合物であり, 植物ホルモンとして知られるジャスモン酸 (JA) の代謝産物である. JA は植物の傷害応答に関与する情報伝達物質として数多くの知見が蓄積しているが, TA 及び TAG に関しては不明な点が多い. そこで我々は TA 及び TAG の詳細な機能解析を目的として, TA から TAG への変換を触媒するグルコシルトランスフェラーゼに着目して研究を行った. その結果, UDP グルコースを糖供与体として用いる TA グルコシルトランスフェラーゼを同定し, 既に報告している. 更に UDP グルコース以外の配糖体化合物を糖供与体として用いるグルコシルトランスフェラーゼの候補として, OsBGlu1 タンパク質の存在を見出した. 植物の二次代謝産物の代謝において, UDP グルコースに依存しない糖転移酵素は稀な例であり, 未解明な分野である. 本研究では, この未同定の糖転移反応の解明を目的として, UDP グルコース以外の糖供与体の探索及び OsBGlu1 タンパク質の機能解析を行った.

(方法および結果)

糖供与体の探索の指標として, イネ培養細胞由来の粗酵素溶液に含まれる糖転移活性を用いた. イネ培養細胞のエタノール-水抽出液を液液分配および種々のカラムクロマトグラフィーに供し, 化合物 1 (図 1) を単離, 同定した. 続いて化合物 1 を化学合成し, その化学構造および糖供与能が天然物と同様であることを確認した.

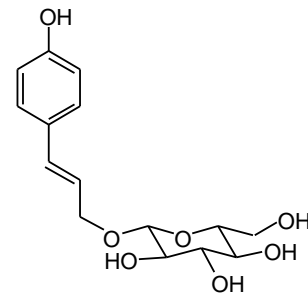


図 1. 化合物 1 の化学構造

OsBGlu1 遺伝子をイネ培養細胞からクローニングし, 大腸菌で過剰発現させた組み換えタンパク質を用いて, グルコシルトランスフェラーゼとしての酵素化学的諸性質の解析を行った. 基質特異性の解析として, 糖受容体として TA 以外の基質を用いて酵素反応を行った場合, それらの配糖体は生成しなかった. 一方で糖供与体として化合物 1 以外の基質を用いた場合, 合成した全て及び入手した市販の全ての配糖体において TAG の生成が確認された. 特にサリチル酸グルコシド (SAG) を用いた際にその生成量は最も高い値を示した.

OsBGlu1 遺伝子の発現パターンを半定量 PCR によって解析した. 本遺伝子は傷害ストレスによって発現が誘導され, その発現は傷害応答時の SAG 内生量の経時変化と良い相関を示した.

以上の実験結果から, 図 2 に示す TAG 生成機構が推察された.

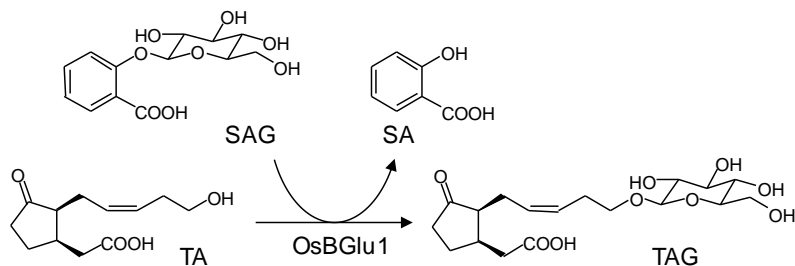


図 2. 実験結果から推察され得る傷害応答時における TAG 生成機構