

ネモフィラのメタロアントシアニン形成に重要なフラボン配糖体生合成に関与する
フラボン糖転移酵素遺伝子の同定

興津奈央子、勝元幸久、松井啓祐、田中良和

(サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社 研究部)

ネモフィラ (*Nemophila menziesii*) は、鮮やかな青い花色が特徴的なムラサキ科ネモフィラ属に属する園芸植物である。その花卉の青さは、アントシアニン、フラボン (apigenin 7-*O*-glucoside-4'-*O*-(6-*O*-malonyl)-glucoside)、金属イオンからなるメタロアントシアニンに由来し、この形成にはフラボンの 4'位と 7'位に転移された 2 個のグルコースが重要であることが知られている (Yoshida et al., 2009)。本研究では、未解明であったこのフラボンの 2 か所の糖転移に関与する糖転移酵素遺伝子の同定を試みた。

まず、ネモフィラ花卉の粗酵素液中に、flavone 7,4'-di-*O*-glucoside を基質としたマロニル基転移活性を見出し、ネモフィラで、apigenin 7,4'-di-*O*-glucoside が中間体として生合成されることを確認した。さらに、UDP-グルコース依存的な flavone 4'-*O*-glucosyltransferase(F4'GT) 活性と flavone 4'-*O*-glucoside 7-*O*-glucosyltransferase(F4'G7GT) 活性を見出し、ネモフィラでは、apigenin 7,4'-di-*O*-glucoside が生合成される際、4'位、7'位の順でフラボン糖転移が起こっていることを明らかにした。

次に、ネモフィラ花卉の開花ステージ別及び、葉のトランスクリプトーム解析を行い、糖転移酵素遺伝子候補 170 種の中から、花卉のフラボン蓄積とパラレルな発現挙動を示す遺伝子を 46 種選抜した。これら遺伝子を大腸菌で発現させ、組換え酵素の糖転移活性を測定することにより、*Nm F4'GT* と *Nm F4'G7GT* 遺伝子を同定した。両遺伝子について、分子系統樹を作成すると、*NmF4'GT* は他の植物のフラボノイド 7GT を含むクラスターに、*NmF4'G7GT* は意外なことにアントシアニン 5GT クラスターに属していた。

組換え *NmF4'GT* は apigenin /luteolin を基質として 4'位特異的にグルコースを転移する反応を触媒したが、apigenin /luteolin 7-*O*-glucoside を基質とはしなかった。そして、組換え *NmF4'G7GT* は apigenin /luteolin 4'-*O* -glucoside を基質として 7'位特異的にグルコースを転移する反応を触媒した。これら糖転移活性と、花卉粗酵素液を用いて明らかにしたフラボン糖転移の順序に矛盾がみられなかったことから、apigenin 7,4'-di-*O*-glucoside は、今回同定した両遺伝子によってネモフィラで生合成されていることが示された。また、両遺伝子を導入したタバコ培養細胞 BY-2 を、apigenin /luteolin を添加した培地で培養したところ、細胞内で apigenin /luteolin 7,4'-di-*O*-glucoside が生産された。これにより、両遺伝子がコードする糖転移酵素が異种植物の細胞内でも機能することが示された。