

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ヨモギ属植物が含有するテルペン類の多様性と多様性創出の分子機構			
研究テーマ (欧文) AZ		Molecular basis of the diverse terpenoid profiles in the genus, <i>Artemisia</i> .			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓) セキ	名) ヒカル	研究期間 B	2007 ~ 2009 年
	漢字 CB	關	光	報告年度 YR	2009 年
	ローマ字 CZ	SEKI	HIKARU	研究機関名	横浜市立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		横浜市立大学木原生物学研究所特任准教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>250 種以上が存在するヨモギ属植物 (<i>Artemisia</i>) は、多様なセスキテルペノイドを含有する。<i>Artemisia annua</i> が生産するアルテミシニンが高い抗マラリア活性を示すことから、その生合成研究が精力的に行われ、セスキテルペン環化酵素であるアモルファ-4,11-ジエン (以下、アモルファジエンと略) 合成酵素 (ADS)、および、アモルファジエンの C12 位を酸化しアルテミシニン酸を生成するシトクローム P450 モノオキシゲナーゼ (CYP71AV1) をコードする遺伝子が生合成遺伝子として単離されている。一方、<i>A. annua</i> 以外のヨモギ属植物については、テルペノイド合成に関する分子遺伝学的研究はほとんど報告がなかった。</p> <p>研究代表者らは、<i>A. annua</i> と同属であるがアルテミシニンを生産しない <i>A. afra</i> 及び <i>A. absinthium</i> において CYP71AV1 と 94% 以上のアミノ酸相同性を示すホモログが発現していること、また、これらアルテミシニン非産生種から単離した CYP71AV1 ホモログは、アモルファジエンを基質とし得るが CYP71AV1 とは異なる酸化の位置特異性を示すことを明らかにした。また、アミノ酸配列比較から、全長 495 アミノ酸のうち 23 残基の違いによって位置特異性が変化することが推察された。</p> <p>そこで、新たに約 30 種のヨモギ属植物を収集し、それらのセスキテルペンプロファイルを明らかにすると共に、酸化テルペノイドを多く含む 8 種から、新規 CYP71AV1 ホモログを単離した。その結果、得られた CYP71AV1 ホモログは、23 箇所のアミノ酸残基のバリエーションにより 5 つのタイプに分類されることが判った。各タイプがそれぞれ異なる基質・生成物特異性を示すことにより、ヨモギ属における多様なセスキテルペノイドの生成に関与するものと推察される。現在、これら CYP71AV1 ホモログの酵素機能解析を行っている。</p>					
キーワード FA	テルペノイド	ヨモギ属	アルテミシニン	遺伝子	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要 EZ

*Artemisia* is a large, diverse genus of plants with more than 250 species, and is known to produce a variety of terpenoids. Artemisinin, a sesquiterpene lacton, is a new and highly effective anti-malarial drug produced by *A. annua*. *A. annua* is currently the only source of artemisinin, therefore, extensive chemical and molecular genetic studies focused on sesquiterpenoid biosynthesis have been performed on this species. Two enzymes 1) amorpha-4,11-diene synthase (ADS), catalyzing the first committed step in artemisinin biosynthesis, and 2) the CYP71AV1, a P450 monooxygenase oxidizing amorpha-4,11-diene at C-12 to generate artemisinic acid via artemisinic alcohol and artemisinic aldehyde, have recently been identified.

We revealed that CYP71AV1 homologs (with more than 94% amino acid sequence identity with CYP71AV1) were expressed in *A. afra* and *A. absinthium*, in spite of the absence of artemisinic acid and amorpha-4,11-diene in these artemisinin non-producers. For functional analysis of CYP71AV1 homologs, cDNAs encoding ADS and each CYP71AV1 homolog were coexpressed in yeast, and ethyl acetate extracts of yeast cultures were analyzed by GC-MS. Putative amorpha-4,11-diene derivative, with retention time different from artemisinic alcohol (C-12), was detected from yeast expressing ADS and each CYP71AV1 homolog, indicating that these homologs also accept amorpha-4,11-diene as substrate, but show distinct regiospecificity.

We also obtained *CYP71AV1* homologs from eight additional *Artemisia* species by genomic PCR. Alignment of the deduced amino acid sequences of CYP71AV1 homologs successfully identified 23 amino acid residues potentially determining regiospecificity of these enzymes.