

Cupressus lusitanica培養細胞のDe novo RNA-seq解析によるヒノキチオール合成経路の探索

在所, 真奈美
九州大学大学院生物資源環境科学府

藤田, 弘毅
九州大学大学院農学研究院

堤, 祐司
九州大学大学院農学研究院

<https://hdl.handle.net/2324/7430224>

出版情報 : 2026. The Japan Wood Research Society
バージョン :
権利関係 :



Cupressus lusitanica 培養細胞の *De novo* RNA-seq 解析による ヒノキチオール合成経路の探索

De novo RNA-seq-based discovery of the hinokitiol biosynthetic pathway in *Cupressus lusitanica*.

(九大農) 在所真奈美、(九大院農) ○藤田弘毅、堤祐司

(Kyushu univ.) Manami Zaisho, ○Koki Fujita, Yuji Tsutsumi

【緒言】

ヒノキチオールとは、抗菌作用など多様な生理活性が知られているテルペン由来のトロポロンである。当研究室では *Cupressus lusitanica* (メキシコイトスギ) 培養細胞を用いて、テルピノレンがテルペンシンターゼ (TSP) によって産生するヒノキチオールの中間体であることを示した⁽¹⁾。また、同培養細胞から得られたミクロソーム画分の P450 モノオキシゲナーゼがテルピノレンの水酸化、エポキシ化を行うことを示した⁽²⁾。一方、細菌類による 7 員環生成経路ではジオキシゲナーゼの関与が報告されている⁽³⁾ (Fig. 1)。

C. lusitanica 培養細胞はエリシテーションによりヒノキチオール生産を開始するので、エリシテーションの有無が生合成酵素の mRNA の消長に反映されると思われる。そこで本研究では、エリシテーション前後の *C. lusitanica* 培養細胞の RNA-seq 解析によりヒノキチオールの生合成に関与する候補遺伝子を推定することを試みた。そこで本研究では、RNA-seq 解析データの中で TPS、ジオキシゲナーゼと P450 に候補を絞り込んで検討を行った。

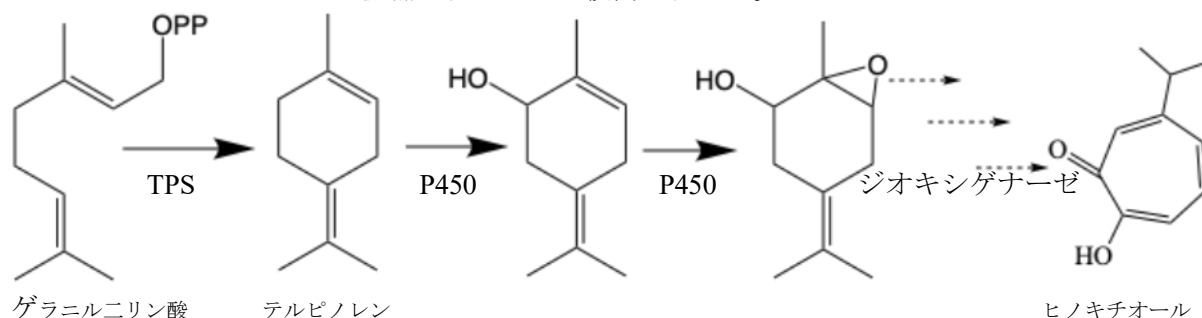


Fig. 1 ヒノキチオールの生合成予想経路と酵素

【実験方法】

培養細胞の継代およびエリシテーションは既報と同じように行った⁽²⁾

未処理 (n=3) およびエリシター処理後 24 時間のカルス (n=3) の RNA の抽出を行った。RNA-seq は Azenda 社に依頼した。RNA-seq データを nf-core / denovotranscript パイプラインに供し、*de novo* アセンブリを実行した。BLASTx による注釈付け、定量解析、差次遺伝子抽出を行った。

【結果および考察】

djusted p-value < 0.05 かつ log₂FoldChange > 0 の条件で抽出された有意上昇遺伝子を、BLAST 注釈からキーワードで抽出をしたところ、テルペンシンターゼ遺伝子が 5 個、P450 関連遺伝子が 58 個、ジオキシゲナーゼ関連遺伝子が 93 個見つかった。これらの遺伝子の中にヒノキチオール生合成に関与するものが含まれていると予想される。今後、時系列ごとの増減のパターンなどからさらに候補を絞り、異種発現によるヒノキチオール生合成への関与の確認を行う。

【参考文献】

(3) Koki Fujita et al., J Plant Physiol, 171(8)8, 610-614, 2014

(3) Takako Harada et al., J Wood Sci, 60(6), 446-452, 2014

(3) Jack Davison and Ahmed Al-Fahad, Proc Natl Acad Sci USA 109(20), 7642-7647, 2012