

次世代シーケンサーを用いたウコンの トランスクリプトーム解析

申請代表者	金谷 重彦	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科	教授
所外共同研究者	中村 建介	奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科	特任准教授
所内共同研究者	田中 謙	資源開発部門生薬資源科学分野	准教授

【報告セミナー要旨】

■研究の背景と目的

近年、いわゆる次世代シーケンサーと呼ばれる配列解析技術が目覚ましく発達している。短時間、低コストで効率的に大量の配列情報を産生する次世代シーケンサーは、ゲノム配列の解析にとどまらず、タンパク質によるDNA配列結合部位の特定 (ChAP-seq)、発現しているメッセンジャー RNA のみの配列を検出するトランスクリプトーム解析 (RNA-seq) など、生物学・生化学研究におおきなインパクトをもたらしつつある。本研究は、沖縄で収穫される大型のウコン栽培種 (収穫時の根茎重量が 1 kg を超える) について、その中に含まれる生理活性成分を網羅的に解析するとともに、この栽培種と従来株を遺伝子レベルで詳細に比較検討し、セスキテルペン環化酵素の同定と germacrane - humulane 選択性の解明、還元型クルクミノイド生合成酵素の同定と機能解明及び低フィチン酸化と生合成の変動との関連性の解析に関する研究を行うことを目標とした。

■分析方法

沖縄産秋ウコン、春ウコン及び秋ウコン新栽培種の種芋用根茎を入手し、富山大学薬学部附属薬用植物園で栽培した。各植物の地上部が十分に成長し形態的に安定した時期に葉部を採取した。採集した試料は、液体窒素により直ちに凍結させ、RNA を抽出した。また、根茎中の成分については、種芋用に用いた根茎の一部を試料とし、液体窒素で凍結下クロロホルム - メタノール - 水により抽出した。分析装置 トランスクリプトーム解析: illumina HiSeq, メタボローム解析: 島津 LC-IT-TOF 質量分析計. 解析用ソフトウェア: bowtie2, cufflinks, platanus

■結果及び考察

メタボローム解析 LC-MS 及び GC-MS による網羅的成分分析により秋ウコン栽培種が低フィチン酸変異株であることを発見した。この栽培種は、sesquiterpene 及び curcumin の生合成が従来種と異なり humulane 型のセスキテルペンを多く含有するとともに還元型 demethoxycurcumin 及び bisdemethoxycurcumin を多量に含有していた。還元型クルクミノイドは非還元型比べて抗酸化活性が高いことが知られており、抗酸化という観点からこの栽培種は有用な機能を有するものと考えられる。

トランスクリプトーム解析 秋ウコンと秋ウコン新栽培種 RNA-seq による遺伝子の発現量の比較解析の結果、curcumin の生合成過程で重要な部分である cinnamoyl-CoA から feruloyl-CoA 合成における芳香環の水酸化酵素の発現量が著しく低下していることが明らかとなった。また、秋ウコン新

栽培種では diketide-CoA synthase の発現が比較的高いことから、 coumaroyl-CoA から coumaroyl-diketide-CoA への反応を進ませ、その下流の bisdemethoxy-, demethoxycurcumin の生成につながっていると考えられた。一般にウコンは、 demethoxycurcumin 及び bisdemethoxycurcumin の含有量と比較して curcumin の含有量が高いが、メタボローム解析で示された従来型ウコンとの含有成分パターンの違いは、 cinnamoyl-CoA の水酸化酵素の発現量低下によるものであることが解明された。

■ 発表論文等

1. Naoaki Ono and Shigehiko Kanaya, RNA-Seq analysis of metabolic pathways for curcuminoids and terpenoids in the Zingiberaceae family, In Proceedings of the 23rd International Conference on Genome Informatics (GIW 2012), Tainan, Taiwan, 12-14 December 2012.
2. Tanaka K. and Arita M., Characterization of new turmeric cultivar by metabolomics approach. International Conference of Research and Application on Traditional Complementary and Alternative Medicine (TCAM) 2012, Solo, Indonesia, 6/22-23, 2012.