

麹菌発現系を利用した生物活性セスタテルペノイドのゲノムマイニング²⁻

(北大院理¹) ○山本 紘嵩¹・佐藤 優哉¹・佐藤 輝歩¹・成田 興司¹・尾崎 太郎¹・南 篤志¹・及川 英秋¹

Genome mining of biologically active sesterterpenoids by heterologous expression in *Aspergillus oryzae* -2- (¹*Faculty of Science, Hokkaido University*) ○Hiroataka Yamamoto,¹ Yuya Sato,¹ Akiho Sato,¹ Koji Narita,¹ Taro Ozaki,¹ Atsushi Minami,¹ Hideaki Oikawa¹

Cyclopentane-forming di/sesterterpene synthases (CPF-TSs) are key enzymes to afford di/sesterterpenes with unique polycyclic molecular skeletons produced by fungi. The characteristic domain organization allowed us to identify homologous enzyme genes in fungal genome. Previous focused genome mining resulted in the identification of four CPS-TSs producing structurally related sesterterpenes. Here, we report identification and characterization of CPF-TS affording a sesterterpene with a pentacyclic skeleton through heterologous expression in *Aspergillus oryzae*.

Keywords : Biosynthesis, Genome mining, Sesterterpene

糸状菌がもつ二機能性テルペン環化酵素 (CPF-TS) は、シクロペンタン骨格をもつジテルペン/セスタテルペンの生合成における鍵酵素である。生成物は、中/大員環を含む多環性骨格を持つため、新規天然物の取得を目指す上で魅力的な研究対象である。以前の本会において、我々は、アミノ酸配列相同性の高い CPF-TS を集中的に解析することで、同一の環化機構を経由してつくられる構造類縁体を取得したことを報告した。今回我々は、新たな CPF-TS の機能解析に加え、修飾酵素遺伝子との共発現、astellatene に関して DFT 計算を用いて推定された環化機構¹⁾ の酸処理による実験的検証を行ったので、その詳細を報告する。

分子系統樹解析を基に、機能解析例の少ない CPF-TS を対象として異種発現を行ったところ、*Aspergillus terreus* のもつ CPF-TS が 5 環性骨格をもつ環化体 1 を生産することがわかった。1 の炭素骨格は既知天然物である aspterpenacid B と同一であったことから、生合成中間体で

あることが予想された。実際、CPF-TS に隣接する P450 との共発現を行うと、酸化生成物が得られた。現在、構造決定を行っている最中である。また、1 を $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ で処理すると、既知環化体である astellatene へと変換された。この結果を基に、両者の環化機構の関連性についても議論する。

¹⁾ C.Huang, A.Kautsar, J.Hong, H.Medema, D.Bond, J.Tantillo, A.Osborn, *PNAS*. **2017**, 114

