

糸状菌由来酸無水物二量体 phomoidride B の生合成研究 (2)

(北大院理¹・東大院農生科²) ○山本 真太郎¹・尾崎 太郎¹・劉 成偉¹・丸山潤一²・南 篤志¹・及川 英秋¹

Studies on the Biosynthesis of Phomoidride B (¹Graduate School of Science, Hokkaido University, ²Graduate School of Agriculture, The University of Tokyo) ○Shintaro Yamamoto,¹ Taro Ozaki,¹ Chengwei Liu,¹ Jun-ichi Maruyama,² Atsushi Minami,¹ Hideaki Oikawa¹

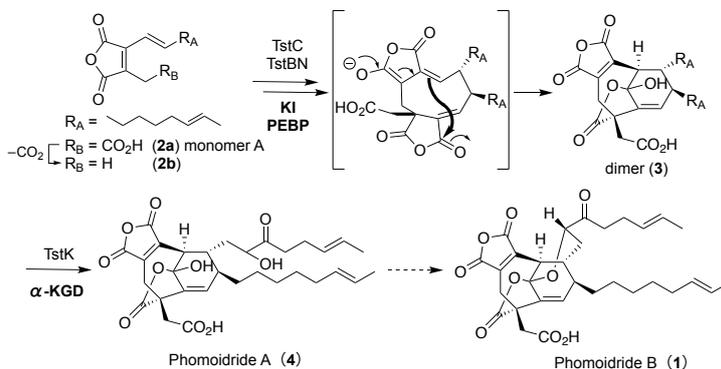
Secondary metabolites possessing maleic anhydride moieties are found in various fungi and lichens and exhibit a wide range of biological activities. Among them, phomoidride B (**1**), an antihypercholesterolemic agent, is known as a representative member with unique dimeric structure. Previously, we identified the biosynthetic gene cluster for **1** and revealed the biosynthetic pathway of maleic anhydride monomer by *in vivo* and *in vitro* experiments. However, the dimerization mechanism remains to be elucidated. In this study, we examined reconstitution of the biosynthetic pathway employing the *Aspergillus oryzae* expression system and CRISPR/Cas9-based genome editing.

Keywords : Biosynthesis; Anhydride; Heterologous expression; Polyketide; Genome editing

Phomoidride B (**1**)は、抗高脂血症薬候補として期待されている糸状菌由来二次代謝産物であり、無水マレイン酸型モノマーの二量化により構築される特徴的な多環式骨格を有している。我々はこれまでにモノマー (**2a**) の生合成経路を明らかにしてきたが、その二量化機構は未解明である。¹

本研究では、CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集技術 (Hot spot knock-in 法²) を利用し、汎用宿主である麴菌内での **1** の生合成経路再構築を試みた。初めに、麴菌 NSPID1 株を宿主としてモノマー生合成遺伝子群を異種発現することで、脱炭酸体 (**2b**) を生産する形質転換体を得た。次に、このモノマー生産株において二量化酵素遺伝子 *tstBCN* を共発現し、得られた形質転換体が二量体 **3** を生産することを明らかにした。これは、特異な 9 員環中間体を経て二量化が進行したものと考えられる。

さらに、**3** の生産株で酸化酵素 *TstK* を共発現したところ、**4** と予想される酸化生成物が検出された。生合成経路の全容解明を目指して、新たな生成物の構造解析や **1** への変換を試みており、その詳細を報告する。



- 1) R. Fujii, *et. al.*, *Org. Lett.* **2015**, 17, 5658-5661
- 2) C. Liu, *et. al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, 141, 15519-15523