

テルペン環化酵素の網羅的解析を基軸とする pestalotiopsisin 類の生合成遺伝子の探索と機能解析

(北大院理¹・弘前大農生²) ○小林 瑞季¹・尾崎 太郎¹・橋本 勝²・永木 愛一郎¹・南 篤志¹・及川 英秋¹

Exploration and functional analysis of sesquiterpene biosynthetic genes based on comprehensive analysis of terpene synthase (*Hokkaido Univ, Fac. of Sci.*¹, *Hirosaki University, Fac. of Agric. Life Sci.*²) ○Mizuki Kobayashi¹, Taro Ozaki¹, Masaru Hashimoto², Aiichiro Nagaki¹, Atsushi Minami¹, Hideaki Oikawa¹

Sesquiterpens are fungal natural products synthesized by the action of a sesquiterpene synthase (STS) and modification enzymes including a cytochrome P450. Recently, we established hot spot-knock-in method, which allows comprehensive analysis of those STSs. Once the function of STS is characterized, co-expression of the STS gene and the neighboring P450 genes in *Aspergillus oryzae* enable us to isolate the corresponding sesquiterpenes. In this study, we applied this method for comprehensive analysis of STSs found in *Seiridium* sp. and characterized function of 9 STSs, which synthesize aristolochene, β -selinene, and β -caryophyllene. Subsequent heterologous expression studies provided insight into the biosynthesis of caryophyllene-derived sesquiterpenes. Details will be discussed in the presentation.

Keywords : biosynthesis, terpene, heterologous expression, *Aspergillus oryzae*

炭素数 15 から構成されるセスキテルペンは、糸状菌が生産する代表的な天然物である。本研究では、本糸状菌が生産するユニークな構造を持つセスキテルペンの生合成遺伝子の同定を目的とし、*Seiridium* sp. KT3957 が持つ STS の網羅的解析および β -caryophyllene を基本骨格に持つ pestalotiopsisin¹ の酸化的修飾反応の解析を行った。

既知の STS (TpCyc, CpSTS4, AstC, PbACS, EriG, TRI5) をクエリーとした Local BLAST 検索により、一般的な子囊菌が持つ STS の数(約 3 遺伝子)を大幅に上回る 16 種の STS を見出した。各 STS を麹菌へと導入してその代謝産物を確認した結果、aristolochene 合成酵素が 4 種、 β -selinene 合成酵素、 β -caryophyllene 合成酵素 (*ptsA*)、構造未決定のテルペン合成酵素 3 種、計 9 種の STS の機能解析に成功した (Figure 1)。9 種の STS の内、生産菌での転写を確認できた STS は 6 種であったことを考慮すると、麹菌を宿主とした異種宿主発現は、STS の網羅的解析において有効であることがわかった。現在、*ptsA* 周辺にある修飾酵素遺伝子との共発現による酸化的修飾反応を検討している。

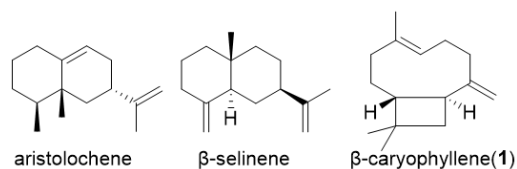


Figure 1 生産されたセスキテルペンの化学構造