

糸状菌由来酸無水物二量体 phomoidride B の生合成研究 (3)

(北大院理¹・東北大院薬²) ○瀧野 純矢¹・山本 真太郎¹・尾崎 太郎²・永木 愛一郎¹・南 篤志¹・及川 英秋¹

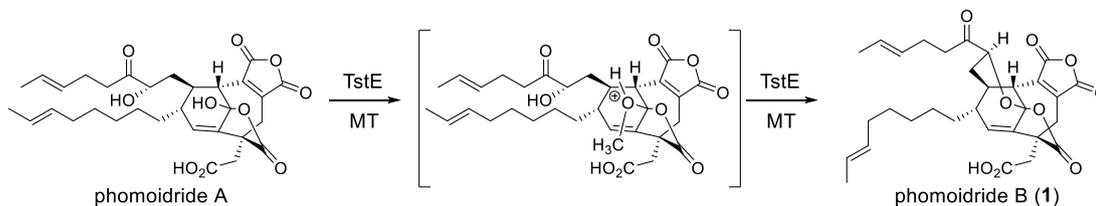
Mechanistic Studies on the Late-Stage Modification Enzymes in the Biosynthesis of Phomoidride B (¹Faculty of Science, Hokkaido University, ²Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University) ○Junya Takino,¹ Shintaro Yamamoto,¹ Taro Ozaki,² Aiichiro Nagaki,¹ Atsushi Minami,¹ Hideaki Oikawa¹

Phomoidride B (**1**), an antihypercholesterolemic agent, is known as a member of fungal dimeric anhydrides, which commonly synthesized from two units of anhydride monomer. Unlike common dimeric anhydrides, **1** has a unique caged structure, which might be synthesized by the action of modification enzymes. In our previous study, we identified the biosynthetic gene cluster and characterized the function of a dimerization enzyme to synthesize the dimeric intermediate. In this report, we identified key late-stage modification enzymes, an α -ketoglutarate-dependent dioxygenase and a methyltransferase, for the synthesis of **1** through heterologous expression experiments. Subsequent *in vitro* enzymatic reactions using recombinant proteins provided evidence on the formation of characteristic caged structure via three-step oxidation and unique methylation-triggered bicyclic ketal formation.

Keywords : Biosynthesis; Polyketide; Anhydride; Heterologous expression

Phomoidride B (**1**)は、抗高脂血症治療薬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。以前の本会で我々は、**1**の生合成遺伝子クラスターを同定し、二量体形成に至る生合成経路について報告した。糸状菌代謝産物には同様の二量体構造を持つ天然物群が存在するが、**1**は他の類縁体にはない特徴的なカゴ型構造を有している点が特徴的であり、その形成機構に興味をもち研究を進めた。

同定したクラスター中の酸化酵素遺伝子 (*tstK*)およびメチル基転移酵素遺伝子 (*tstE*)を二量体生産形質転換体に追加導入したところ、**1**の生産が観測された。次いで、組換えタンパク質を用いた *in vitro* 実験を行い、TstKが多段階酸化反応を触媒して二量体を phomoidride A へ変換すること、TstEがSAM依存的なメチル化反応を起点としたカゴ型構造形成を触媒して**1**を与えることがわかった。以上の実験より、**1**生合成の全容を解明したので報告する¹⁾。



1) S. Yamamoto, et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 20998-21004.