

27H-am01

ヘルポール酸生合成に関与する酸化酵素の機能解析

○三ツ口 尚志¹, 勢メ 康代², 藤井 勲², 渋谷 雅明¹, 久城 哲夫¹, 海老塚 豊¹
(¹東大院薬, ²岩手医大薬)

【目的】我々は、糸状菌 *Aspergillus fumigatus* が産生する抗生物質ヘルポール酸の生合成遺伝子の同定を試みている。ヘルポール酸は、その構造からオキシドスクアレンがオキシドスクアレン閉環酵素 (OSC) により protosta-17(20)Z,24-dien-3 β -ol に閉環した後、酸化やアセチル化等を経て生合成されると考えられる。我々は前報 (第 127 年会) において、*A. fumigatus* のゲノム中に、ヘルポール酸の生合成に関わるとされる 16.3kb に渡る遺伝子クラスターを見出し、本クラスター内の *AfuOSC3* が protosta-17(20)Z,24-dien-3 β -ol を与える OSC をコードしていることを報告した。そこで今回、さらに OSC の下流で機能すると予想される酸化酵素遺伝子の機能解析を進めることにした。

【方法・結果】*A. fumigatus* IFO 8866 株より、クラスター内の 4 種の P450 遺伝子と 1 種の short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) 遺伝子 (*Afu4g14800*) をそれぞれクローニング後、酵母発現用ベクター pESC (Ura) に *AfuOSC3* と共に導入した。各々のプラスミドを用いてラノステロール合成酵素欠損酵母株 GIL77 を形質転換し、誘導培養後の培地をヘキサンで抽出、TLC および GC-MS で分析したところ、SDR との共発現体において、*AfuOSC3* のみの発現では見られない新たなトリテルペンの存在を確認した。そこで、大量培養を行い、シリカゲルカラムにより目的生成物を精製単離した。各種 NMR などで構造解析を行い、生成物を protosta-17(20)Z,24-dien-3-one と同定した。これは、ヘルポール酸の生合成中間体として矛盾のない化合物である。

