

27H-am04

麹菌 *A. oryzae* の繰返し型タイプ I ポリケタイド合成酵素遺伝子の発現と機能解析

○守屋 智博¹, 勢ノ 康代², 北本 勝ひこ³, 藤井 勲², 海老塚 豊¹ (¹東大院薬, ²岩手医大薬, ³東大院農生科)

【目的】麹菌 *Aspergillus oryzae* RIB40 の全ゲノム配列決定がなされ、その解析により本菌には多数のポリケタイド合成酵素 (PKS) 遺伝子の存在することが明らかにされている。完全長の繰返し型タイプ I PKS 遺伝子は28個存在し、そのドメイン構成から、芳香族化合物を生成すると考えられる芳香族型 PKS をコードする遺伝子は13個 (*Ao1-1*~*13*)、脂肪族化合物を生成する還元型 PKS の遺伝子は12個 (*Ao2-1*~*12*)、また、非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) とのハイブリッド型 PKS の遺伝子は3個 (*Ao3-1*~*3*) であった。しかし、これまでに *A. oryzae* よりこれら PKS の産物と考えられる化合物の単離は報告されておらず、PKS 遺伝子の機能を明らかにすることを目的として、順次 *A. oryzae* をホストとする発現系を用いて誘導発現させ、その生成産物を同定することとした。

【方法・結果】芳香族型 PKS 遺伝子 *Ao1-1* を糸状菌用発現ベクター pTAex3R に Gateway 法により導入し、発現プラスミドを構築、*A. oryzae* M-2-3 株を形質転換した。得られた形質転換体を誘導培養し、生産化合物を HPLC と LC-MS により確認した所、培養液と菌体抽出物の両方から特異的な化合物が検出された。それらはトポイソメラーゼ I 阻害剤として報告されているノナケタイド Topopyrone D とその PKS 反応の副生成物であるオクタケタイド Haematomone であった。同様の手法により *Ao1-7* 形質転換体を作製し、培養液抽出物中より PKS 産物を2つ確認し、分離、精製して NMR 構造解析によりそれらをヘプタケタイド Alternariol、Citreoisocoumarin と同定した。

現在、還元型、ハイブリッド型も含めて他の PKS 遺伝子についても同様に発現系の構築と解析を進めている。