

27G-pm03

糸状菌 *Aspergillus nidulans* 由来オキシドスクアレン閉環酵素の機能解析

○木下 亜希子¹, 久城 真代², 久城 哲夫¹, 渋谷 雅明¹, 海老塚 豊¹(¹東大院薬,
²農研機構・食総研)

【目的】オキシドスクアレン閉環酵素(OSC)により生合成されるトリテルペンは、広く動物・植物・糸状菌などに分布し、多彩な生物活性を示す。なかでも β -amyrin は、植物界に普遍的に存在するトリテルペンであり、多くの生薬の主薬効成分の前駆体として重要である。一方、植物以外にも唯一、糸状菌 *Aspergillus nidulans* から β -amyrin の単離報告例がある。これまで糸状菌から単離報告がなされたトリテルペンは、ラノステロール誘導体、ホパノイド、フシダン類、そして β -amyrin のみであり、糸状菌における β -amyrin の存在は種々の観点から興味深い。本研究では、*A. nidulans* から新規トリテルペン合成酵素遺伝子をクローニングし、機能解析することを目的とした。

【方法・結果】近年全ゲノム配列が解読された *A. nidulans* のゲノムデータベース中に、ラノステロール合成酵素とは異なる機能を持つと推測される OSC 遺伝子(糸状菌ラノステロール合成酵素との相同性は 35%)が見出された。3日間静置培養した *A. nidulans* FGSC A4 株より、本 OSC 遺伝子(*AN8249.2*)をクローニング後、酵母発現用ベクター-pYES2(Ura)に導入し、ラノステロール合成酵素欠損酵母株 GIL77 を形質転換した。形質転換酵母の菌体をヘキササンで抽出し、GC-MS で分析したところ、 β -amyrin と α -amyrin を含む 5 種のトリテルペンの存在を確認した。これらの生成物を同定するため大量培養を行い、菌体のヘキササン抽出物をシリカゲルカラムにより精製し、NMR 解析を行った。その結果、5 種のトリテルペンのうち、主生成物は β -amyrin 及び δ -amyrin であり、3 種の副生成物に α -amyrin が含まれていることが判明した。残りの副生成物については現在解析中である。