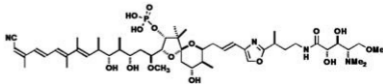


海洋天然物 Calyculin A 生合成遺伝子クラスターのクローニング

○江上 蓉子¹, 脇本 敏幸¹, 伊藤 卓也², 浅川 義範², 阿部 郁朗¹ (¹東大院薬,
²徳島文理大薬)

【目的】 Calyculin A¹⁾ は伊豆半島沿岸に生息するチョコガタイシカイメン *Discodermia calyx* より単離された強力な細胞毒性物質である。その構造は tetraene、5,6-spiroketal、phosphate、oxazole を含み、PKS と NRPS のハイブリッド経路より生合成されると推測されるが、詳細については未だ報告されていない。また、海綿由来の生物活性物質の多くは共生微生物が真の生産者であると考えられているが、そのほとんどが難培養性である。そこで、本研究では海綿内共生微生物を含むメタゲノム DNA より calyculin A の生合成遺伝子クラスターの探索を試みた。

【方法・結果】 *D. calyx* から抽出したメタゲノム DNA より ketosynthase (KS) ドメインに特異的な縮重プライマーを用いた PCR 法により KS ドメイン遺伝子フラグメントを得た。得られた KS ドメインの配列情報から相同性検索を行った結果、type I PKS である *cis*-AT、*trans*-AT および *sup* に属する KS の存在を明らかにした。さらに、*trans*-AT に属する KS の系統樹解析を行った結果、4 種類の KS について calyculin A 生合成への関与が示唆された。そこで、*D. calyx* メタゲノム DNA より fosmid ライブラリー (平均インサート長約 35 kb、 2.5×10^5 cfu) を構築し、calyculin A 生合成への関与が示唆された KS の配列を基にスクリーニングを行った。その結果、約 100 kb をカバーするポジティブクローンを得た。現在、これらのシーケンス解析を行っている。



Calyculin A

1) N. Fusetani *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 2780 (1986).