

25Q-am04

Cyclopenin 類から viridicatin 類とメチルイソシアネートを生成する糸状菌由来酵素シクロペナーゼの発見と機能解析

○岸本 真治¹, 石川 格靖¹, 原 幸大¹, 山田 陽香¹, 平山 裕一郎¹, 橋本 博¹, 恒松 雄太¹, 渡辺 賢二¹ (¹静岡県大薬)

【目的】Cyclopenin 類および viridicatin 類は様々な *Aspergillus* 属および *Penicillium* 属の糸状菌で産生が確認されている化合物群である。1967年、Luckner は *Penicillium viridicatum* の菌体抽出液が cyclopenin 類を viridicatin 類へと変換することを見出し、この変換を担う酵素としてシクロペナーゼの存在を提唱したが、その正体が明らかにされることはなかった¹。そこで我々はシクロペナーゼの正体とその触媒する反応機構を明らかにするため、viridicatin 類が生合成中間体であると予想された penigequinolone 類および aspoquinolone 類の生合成研究を開始した。

【方法・結果】まず、penigequinolone 類の生産菌である *Penicillium* 属糸状菌 FKI-2140 株の菌体破砕液から酵素活性を指標にタンパク質の分画を行い、粗精製シクロペナーゼを得た。続いて FKI-2140 株のドラフトゲノムを解読後、penigequinolone 類の生合成に必要なと推定される遺伝子を全て含む遺伝子クラスターを探索し、*png* クラスターを見出した。一方、aspoquinolone 類生産菌である *Aspergillus nidulans* のゲノム中にも *png* クラスターと構成要素のよく似た *asq* クラスターを見出すことができた²。粗精製シクロペナーゼから得られた情報を元に *png*、*asq* 両クラスター中での候補遺伝子を絞り込み、異種宿主発現させて得られた酵素の活性を測定したところ、二次代謝への関与が予想されなかったヘモシアニン様タンパク質 PngL、AsqI がシクロペナーゼ活性を有していることが明らかとなった。このうち AsqI の精製と結晶化に成功しており、これを用いた生化学的解析および X 線結晶構造解析によりシクロペナーゼの触媒メカニズムの解明を進めている。

1. Luckner, M. *Eur. J. Biochem.* **1967**, *2*, 74.

2. Ishikawa, N. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 12880.