

21R-pm16S

レギュレーター-遺伝子改変法による *Coprinopsis* 属担子菌の新規天然物生合成経路活性化

○高西 潤¹, 榎谷 貴洋¹, 中沢 威人², 恒松 雄太¹, 佐藤 道大¹, 渡辺 賢二¹ (¹静岡県大薬, ²京大院農)

【目的】キノコ(担子菌類)は他の生物種とは異なるユニークな二次代謝産物を生産することが知られている。しかし、キノコのゲノム情報が解読されるにつれ、既にキノコより単離されている二次代謝産物よりも多くの二次代謝産物生合成遺伝子がゲノム中に存在すると示唆されたため、多くの生合成遺伝子は休眠型であると考えられた。これら休眠型生合成遺伝子を強制的に発現させることで、構造新規な二次代謝産物の獲得が期待される。既にカビ(子囊菌類)を用いた天然物研究において、生合成遺伝子の発現量を制御するレギュレーター-遺伝子の過剰発現、破壊を行うことで特定の生合成経路を活性化させ、新規化合物の取得に成功しているが、キノコでは現在までにそのような研究例は報告されていない。そこで、本研究ではキノコのレギュレーター-遺伝子改変に基づく生合成経路の活性化により新規化合物の獲得を目指した。

【方法】本研究では、キノコのモデル生物で遺伝子操作系が確立されているウシグソヒトヨタケ *Coprinopsis cinerea* を用いた。*C. cinerea* のゲノム情報から、グローバルレギュレーター-遺伝子を探索したところ、*Aspergillus fumigatus* のグローバルレギュレーター-遺伝子 *laeA* と相同性の高い CC1G_00498 遺伝子 (*CclaeA*) を見出した。そこでプロトプラスト-PEG 法にて *CclaeA* を破壊し、得られた破壊株の化合物生産を調べた。

【結果】培養液抽出物を LC-MS 分析に供した結果、*CclaeA* 破壊株において野生株より化合物生産が約 100 倍以上上昇した分子式 $C_{35}H_{65}N_7O_{10}$ で表される化合物 **1** を見出した。化合物 **1** の単離、構造決定を行ったところ、化合物 **1** は *N*-hydroxy-L-ornithine の 3 量体構造を含む新規アシル化トリペプチドであることがわかった。

【考察】*CclaeA* の破壊により生産性が劇的に向上した化合物 **1** は、*C. cinerea* が持つ非リボソーム性ペプチド合成酵素遺伝子 (CC1G_04210) 由来であることが示唆された。そこで CC1G_04210 の遺伝子破壊を行うなど、本遺伝子と化合物 **1** 生合成との関連性について解析を進めている。子囊菌由来 *laeA* は二次代謝産物生産を正に制御するのに対し、予想外にも担子菌由来 *CclaeA* は化合物 **1** の生産を負に制御していた。本研究は *LaeA* タンパク質の二次代謝制御における新たな機能を世に提示するものであり、本機能の解明により生合成遺伝子の休眠・覚醒化の理解、ひいては効率的な新規天然物獲得法の樹立へとつながると期待される。