

22PO-am057

Emericella varicolor GF10 のメロテルペノイド生合成遺伝子クラスター

○内藤 未早妃¹, 工藤 萌¹, 千葉 環¹, 松川 美保¹, 宮 彩子¹, 橋元 誠², 林 宏明¹, 藤井 勲¹ (¹岩手医大薬, ²武蔵野大薬)

【目的】*Emericella varicolor* GF10 は、三重県五ヶ所湾で採取された糸状菌であり、特異な2つのビシクロ環系を有する shimalactone を生産する。本菌のゲノム解析から、shimalactone 生合成以外の PKS 遺伝子として非還元型 NR-PKS 遺伝子を含む生合成遺伝子クラスターを見出した。コードされる NR-PKS は、全長 1,514 aa とタイプ I 型 PKS としては非常に小さく、その解析から SAT-KS-AT-2ACP のドメイン構成を持つことが確認された。また、この PKS 遺伝子の周囲には2つの P450、FAD monooxygenase、GGDP synthase、prenyltransferase、laccase、そして integral membrane protein 型の terpene cyclase をコードする遺伝子が存在しており、メロテルペノイド化合物の生合成遺伝子クラスターと考えられた。

【方法・結果】本遺伝子クラスターの NR-PKS は、ポリケトメチレン鎖中間体のアルドール型の閉環反応により環化・芳香化に関わるとされる product template domain (PT domain) を持たない NR-PKS としては大変興味深いものであったことから、この PKS 遺伝子を糸状菌の発現プラスミド pTAex3 に組み込み、麹菌 *A. oryzae* に導入し、発現させた。その結果、本 PKS の生産化合物が triacetic acid lactone (TAL) であることを確認した。ついで、pyrithiamine 耐性マーカーを持つ pPTRI をベースに GGDP synthase と prenyltransferase の発現カセットを組み込んだ pPTRI-GGS-PPT を構築し、これを PKS 発現プラスミドとともに *A. oryzae* に導入し、発現させたところ、geranylgeranyl TAL が生産されることを確認した。そこで、この生合成遺伝子クラスターを tam cluster と命名した。現在、上記の遺伝子 (それぞれ tam1, 4, 5) に加えて、FAD monooxygenase (tam3)、cyclase (tam7)、P450 (tam2, 6) などとの共発現系の構築と最終産物の同定を目指して検討中である。