

## 研究成果報告書

研究テーマ (和文) AB	天然物生合成におけるヘテロ二量体化機構の解明と有用物質生産系構築への応用				
研究テーマ (欧文) AZ	Elucidation of the Heterodimerization Mechanisms in Natural Products Biosynthesis and Construction of Production Systems for Useful Molecules				
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)マツダ	名)ユウダイ	研究期間 B	2018 ~ 2019 年
	漢字 CB	松田	侑大	報告年度 YR	2019 年
	ローマ字 CZ	Matsuda	Yudai	研究機関名	香港城市大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	香港城市大学化学系 助理教授				
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)	<p>ヘテロ二量体化とは、異なる2つの分子が結合し、新たな化合物を与える反応のことを言い、天然物の生合成過程において広く一般的に見られる反応である。その多くは、非酵素的に、また、生物が本来意図しない形で進行すると考えられる。一方で、酵素的なヘテロ二量化に関しては、十分な研究がなされているとは言いがたく、ヘテロ二量化反応に関わる酵素群の機能解析、機能改変を通じて、非天然型の単量体ユニットの導入や新たな二量化の様式の創出などによる新規化合物の取得が期待される。本研究では特に、糸状菌 <i>Aspergillus novofumigatus</i> の産生するテトラヒドロキサントン(THX)二量体 neosartorin に着目し、その生合成経路の解明を目指した。</p> <p>本研究に先立ち、我々は、<i>A. novofumigatus</i> のゲノム中に neosartorin の生合成遺伝子群(遺伝子クラスター)を見出すとともに、遺伝子破壊実験を通じて、推定生合成経路を提唱している(<i>Org. Lett.</i> <b>2018</b>, <i>20</i>, 7197)。本研究では、まず本推定生合成経路に基づき、neosartorin の単量体ユニットである blennolide A ならびに blennolide C の生合成を異種糸状菌 <i>Aspergillus oryzae</i> にて再構成することを試みた。その結果、12 遺伝子を導入することで両化合物が生産されることを確認するとともに、新奇異性化酵素 NsrQ が THX 骨格の形成に重要な役割を果たすことを見出した。さらに、精製酵素を用いた <i>in vitro</i> の試験を実施することで、NsrQ の詳細な機能解析を行い、THX 骨格形成に関わる反応機構を提唱するに至った(<i>Org. Lett.</i> <b>2020</b>, <i>in press</i>)。</p> <p>現在は、類縁化合物の生合成研究を進めており、THX 天然物の構造多様化機構の解明ならびに、新規有用化合物の生成を目指している。</p>				
キーワード FA	天然物生合成	キサントン	異性化酵素		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Unraveling the Fungal Strategy for Tetrahydroxanthone Biosynthesis and Diversification							
	著者名 <sup>GA</sup>	Xingxing Wei; Yudai Matsuda	雑誌名 <sup>GC</sup>	<i>Organic Letters</i>					
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	2	0	巻号 <sup>GD</sup>	in press
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要<sup>EZ</sup>

Heterodimerization is a reaction in which two different molecules are hybridized to provide a new compound, which is widely seen in natural product biosynthesis. Most of the heterodimerization reactions apparently occur nonenzymatically and unintentionally. On the other hand, enzymatic heterodimerizations have been poorly understood, and therefore, characterization and bioengineering of the enzymes involved in the heterodimerization processes could lead to the production of novel molecules by introducing unnatural monomeric units or dimerization modes. In this study, we focused on the tetrahydroxanthone (THX) dimer neosartorin produced by a fungus *Aspergillus novofumigatus*, and sought to completely elucidate the biosynthetic pathway of the compound.

Previously, we have identified the biosynthetic gene cluster of neosartorin in the genome of *A. novofumigatus*, and predicted its biosynthetic pathway through gene deletion experiments (*Org. Lett.* **2018**, *20*, 7197). Here we initially sought to reconstitute the biosynthesis of the monomeric units of neosartorin, blennolides A and C, based on the predicted pathway in a heterologous fungus *Aspergillus oryzae*. As a result, we have successfully achieved the total biosynthesis of the two compounds by introducing 12 biosynthetic genes and revealed that an unusual isomerase NsrQ plays a critical role in the THX skeleton formation. We have also performed in vitro enzymatic reactions using purified enzymes and characterized the function of NsrQ in detail, leading to the proposal of the reaction mechanism to afford the THX architecture (*Org. Lett.* **2020**, in press).

We are currently performing biosynthetic studies on other THX natural products and aim to understand the mechanism behind the diversity generation of fungal THXs and to create artificial metabolic pathways to synthesize unnatural and useful natural product analogs.