

植物ホルモン Absciscic Acid の生合成における新規環化酵素の機能解析-1-

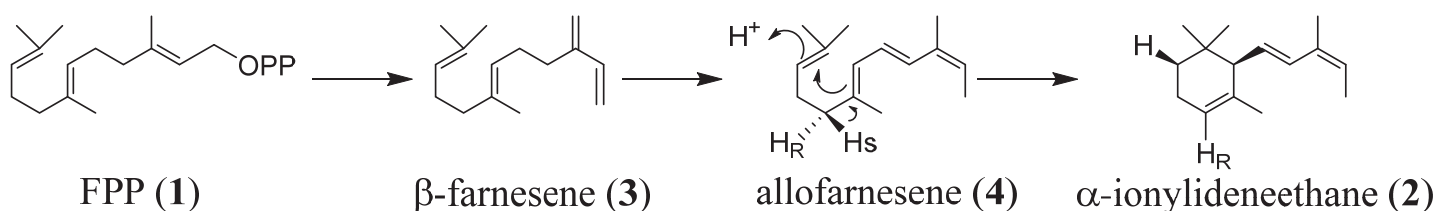
Functional analysis of sesquiterpene synthase in the biosynthesis of ABA -1-

○瀧野 純矢、小崎 拓登、佐藤 芳郎、劉 成偉、尾崎 太郎、南 篤志、及川 英秋 (北大院理)

○Junya TAKINO, Takuto KOZAKI, Yoshiro SATO, Chengwei LIU, Taro OZAKI, Atsushi MINAMI, Hideaki OIKAWA (Fac. Sci., Hokkaido Univ.)

【目的・背景】植物の乾燥などに対するストレス応答に関わる重要な植物ホルモンであるアブシジン酸(ABA)は、植物に加え、灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* などの糸状菌からも生産される。同位体標識前駆体の取り込み実験などから、糸状菌では、①炭素数 15 のファルネシル二リン酸 (FPP, **1**) の直接環化による α -ionylideneethane (**2**) の生成、②酸化修飾反応によって ABA が生合成されと考えられていた¹⁾²⁾。また、2006 年には生合成遺伝子クラスター(*aba*)も発見され、遺伝子破壊実験などから、酸化酵素である BcABA1,2,4 が酸化修飾に関わることが示唆された³⁾。しかしながら、生合成において鍵となる環化酵素遺伝子は明らかにされていなかった。今回我々は、クラスターに存在する機能未知遺伝子 *bcABA3* が **2** の生成に関わる環化酵素であることを同定し、*in vitro* 実験と *in vivo* 実験からその環化機構を解明したので、その詳細を報告する。

【方法・結果】はじめに、データベースに登録されていた 2 種の配列(BcABA3-S、BcABA3-L)を麹菌で異種発現した。各形質転換体が生産した揮発性化合物を GC-MS で分析したところ、BcABA3-L 導入株で **2** の生産を確認した。次いで、13 種の重水素標識 FPP などを用いた *in vitro* の実験で **2** の標識パターンを詳細に調べることで、 β -farnesene (**3**) と allofarnesene (**4**) を経由した環化機構を推定した。炭化水素を中間体とする環化機構の実験的な検証は困難であると考えられていたが、FPP 生合成の阻害剤 fosmidomycin を用いた *in vivo* 実験系を新たに確立することで、**3** や **4** から **2** への変換を確認した。以上より、BcABA3 は 1) **1** の脱リン酸化による **3** の形成、2) **3** から **4** への異性化、3) **4** から **2** への環化という 3 段階の環化反応を触媒する極めて稀な酵素であることを明らかにした⁴⁾。本酵素は、機能既知テルペン環化酵素に保存されているモチーフをもたない新奇テルペン環化酵素である。



参考文献

- 1) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2000**, 64, 1448-1458. 2) *Phytochemistry* **2004**, 65, 2667-2678.
3) *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, 72, 4619-4626. 4) *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 12392-12395.