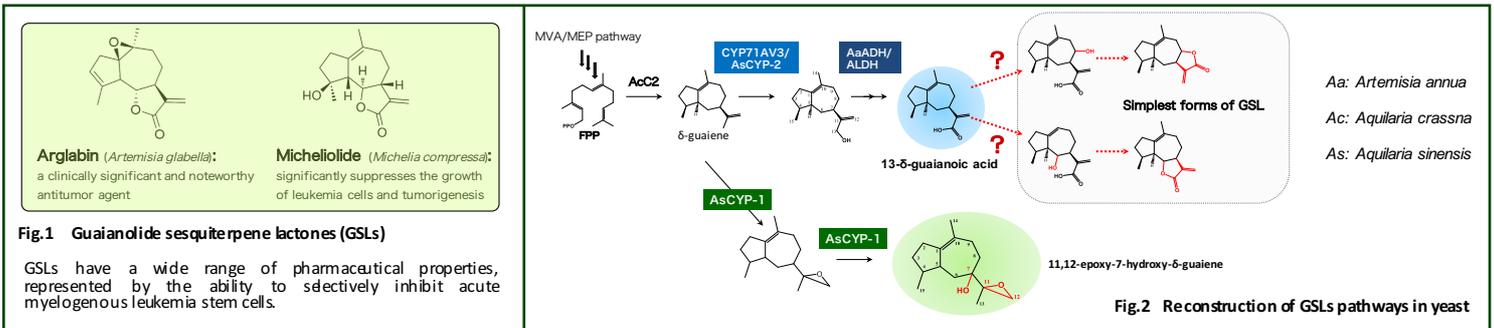


13

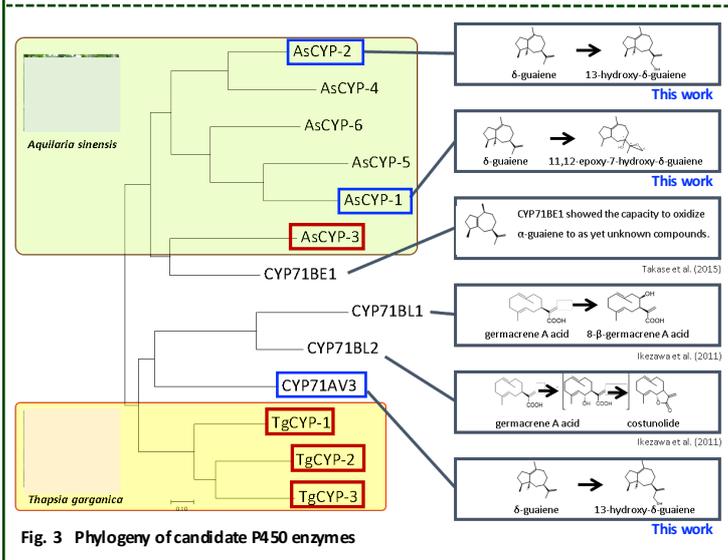
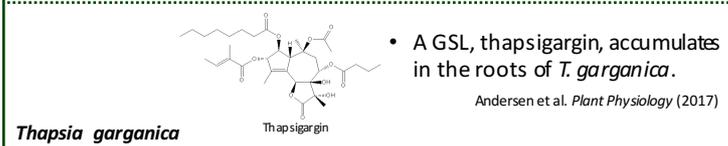
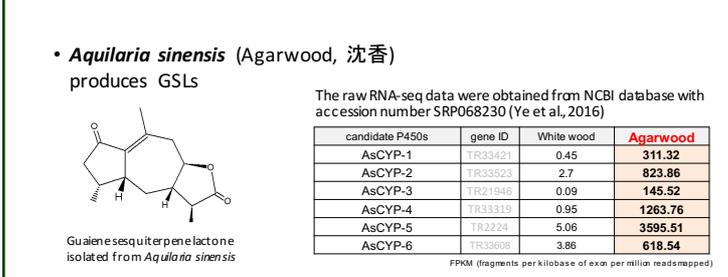
がん幹細胞選択的な細胞毒性を示す植物成分の微生物生産に向けた研究

關 光 (大阪大学大学院工学研究科)

Guaianolide Sesquiterpene Lactones (GSLs) は、5員環-7員環-ラクトン環が縮合した基本構造をもつ植物セスキテルペノイドの一群である。幾つかのGSLは急性骨髄性白血病幹細胞に選択的な細胞毒性を有することが報告されている。本研究では、組換え酵母におけるGSLs合成経路の再構築をめざした。シヤムジンコウ由来 δ -guaiene合成酵素、レタス由来CYP71AV3、*Artemisia annua*由来アルコールデヒドロゲナーゼ (ADH1) およびアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH1) 遺伝子を酵母に導入しGSLsの前駆体となりうる δ -guaianoic acidを*de novo*合成した。次に、 δ -guaianoic acidの6位あるいは8位を水酸化し分子内脱水縮合によるラクトン環形成を誘導する酵素の候補として、シナジンコウから6種のCYP71ファミリーP450を選抜し酵素機能を解析した。そのうち3種が δ -guaieneに対する酸化活性を示したが、目的とするラクトン環形成誘導活性については検出されなかった。従って、さらなる候補酵素遺伝子の探索が必要である。



Candidate gene mining



Enzyme activity assays

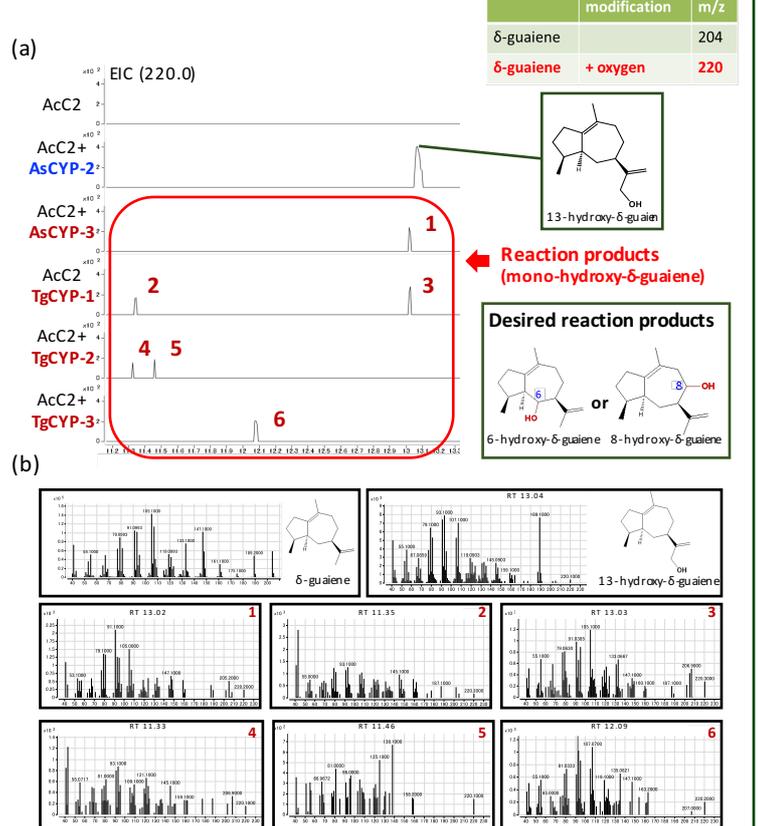


Fig. 4 GC/MS analysis of the product of *AcC2/P450s/CPR*-expressing yeast

(a) Extracted ion chromatograms (EICs) at m/z 220. (b) Mass spectra of peaks 1-6.

- Mass spectra and retention times of Peaks 1-6 were different from those of 13-hydroxy- δ -guaiene, suggesting that peaks 1-6 are mono-hydroxylated δ -guaiene other than 13-hydroxy- δ -guaiene.

Conclusion

- 4 candidate P450s from *A. sinensis* and *T. garganica* showed activities against δ -guaiene.
- 6 unknown reaction products were presumed to be mono-hydroxylated δ -guaiene: they are likely to differ in the position of hydroxy group from C-13.
- Mining of additional candidate P450s highly homologous to these P450s (sharing 40% amino acid sequence identity) from GSL-producing plants would be a promising approach to identify desirable enzyme for reconstruction of GSL pathway in yeast.

Future plan

- Structural determination of the reaction products.
 - Functional analysis of candidate P450s against δ -guaianoic acid.
- Method for analysis of candidates P450s
- FPP $\xrightarrow{AcC2}$ δ -guaianoic acid $\xrightarrow{CYP71AV3}$ hydroxy δ -guaiene $\xrightarrow{ADH1, ALDH1}$ Lactonization reaction \rightarrow or GSL