

〔醸酵工学 第61巻 第3号 129-137, 1983〕

総合論文

マイコトキシン パツリンの生合成

関 口 順 一

熊本工業大学応用微生物工学科

The biosynthesis of the mycotoxin, patulin. JUNICHI SEKIGUCHI (*Department of Applied Microbiology and Technology, Kumamoto Institute of Technology, Ikeda 4-22-1, Kumamoto 860, Japan*) *Hakkokogaku* **61**: 129-137. 1983.

Patulin is a typical mycotoxin originally isolated from *Penicillium patulum* as an antibiotic, and the patulin biosynthetic pathway is a classical example of the large group of polyacetate-derived secondary metabolites known as polyketides. Unexpected metabolites produced by a patulin-deficient mutant revealed a new portion of the pathway. We have investigated the patulin biosynthetic pathway with the aid of several patulin-deficient mutants, pathway enzymology, bioconversion of metabolites, and immobilized cell techniques. It was found that three mycotoxins (phyllostine, isoeoxydon and ascladiol) and a new lactone (neopatulin) exist on the pathway. Two dehydrogenases among the pathway enzymes were characterized. Furthermore, in contrast to the accepted assumption, monooxygenase mediated the ring cleavage of an aromatic precursor, gentisaldehyde. Finally, the patulin pathway becomes twice as long as the portion known before 1978, and is one of the best characterized pathways of secondary metabolism. In this monograph, mechanisms of the conversion of phyllostine to neopatulin, and neopatulin to phyllostine, are proposed, and a pathway for the related mycotoxin, penicillic acid, is also discussed.

1. 序 論

パツリン [4-hydroxy-4H-furo[3,2-C]pyran-2(6H)-one] は1943年 Birkinshawら¹⁾により *Penicillium patulum* (同意語: *Penicillium urticae*) の培養液より分離された二次代謝物であり, *P. expansum*, *P. claviforme*, *P. roqueforti*, *P. lapidosum*, *Aspergillus clavatus*, *A. giganteus*, *A. terreus*, *Byssoschlamys nivea* 等より単離されている。²⁻⁴⁾ expansin,⁵⁾ clavatin,⁶⁾ claviformin⁷⁾ などの別名を持ち, その生産菌は世界中広く分布する。とくに *P. expansum* はりんごの腐敗かびで, パツリンはりんごを原料とする飲食品や他の果実中からも分離される。^{8,9)} さらに *P. urticae* は飼料であるビール粕麦芽根に発生して, パツリンによる乳牛の集団中毒死をもたらしたこともある。¹⁰⁾ また *A. clavatus* は米の中で増殖してパツリンを生産し,¹¹⁾ 一方 *Byssoschlamys nivea* は耐熱性が強く, 缶

詰, 瓶詰食品の汚染微生物として認められるもので, パツリンの混入が危惧されている。¹²⁾

元来パツリンは抗生物質として分離されたもので,¹⁾ グラム陽性菌, グラム陰性菌やかびにも抗菌力を有し,^{13,14)} さらに抗ウイルス活性,¹⁵⁾ 抗腫瘍性,^{14,16)} 殺虫性,¹⁷⁾ 植物毒性¹⁸⁾ をも有している。しかし一方, 神経毒として高い急性毒性を持ち,¹⁶⁾ 変異原性,¹⁹⁾ 発癌性²⁰⁾ を示すため, マイコトキシンとして名高い。

パツリンの構造は1949年 Woodward と Singh²¹⁾ により決定された。Fig. 1 に示すように, 分子内に6員環のヘミアセタールと5員環のラクトンを有しており, 1位についている水酸基は光学不活性である。この理由として, ヘミアセタール形成が非酵素的に生じると考えられる。最近では Hubbard ら²²⁾ の X線解析により原子間距離も報告された。

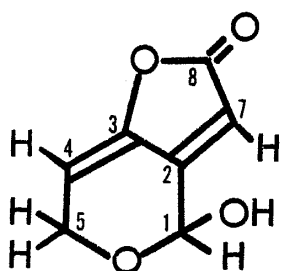
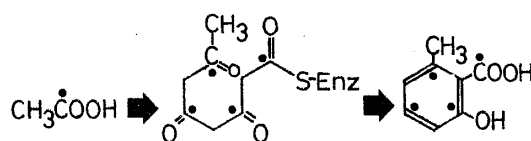


Fig. 1. Structure of patulin.

2. ポリケタイド経路の発見とパツリン生合成研究の歴史 (1943年~1977年)

6-メチルサリチル酸 (Fig. 2) は Ehrensvar²³⁾ により *P. patulum* の培養液より初めて単離されて以来, 1955年 Birch²⁴⁾ は [1-¹⁴C]-酢酸を *P. griseofulvum* に加えた後, 6-メチルサリチル酸を分離して調べた結果, 4分子の酢酸が1位と2位 (head-to-tail) で縮合して生じることを示した (Fig. 2). そしてこの報告はポリケタイド経路を実証した最初の例となった. 続いて Bu'lock と Ryan²⁵⁾ および Tanenbaum と Bassett²⁶⁾ により6-メチルサリチル酸がパツリンに変換されることが明らかとなり, その後6-フォルミルサリチル酸, *m*-クレゾール, *m*-ヒドロキシベンジル アルコール, ゲンチシル アルコール, ゲンチスアルデヒド, ゲンチシン酸, トルキノールと多数のフェノール化合物の分離が報告されるに至り, さまざまな生合成経路が提案された. 一方, 6-メチルサリチル酸合成酵素は Lynen^{27,28)} により詳細に研究され, 脂肪酸合成と類似の方法により, 1分子のアセチル-CoA と3分子のマロニル-CoA が複合酵素のもとで合成されることが立証された.

1972年 Forrester と Gaucher²⁹⁾ は放射化した前駆物質を *P. urticae* の培養液に加え, 放射能の他の物質への取り込みを経時的に調べた結果, パツリン生合成経路は6-メチルサリチル酸→*m*-クレゾール→*m*-ヒドロキシベンジル アルコール→*m*-ヒドロキシベンズアルデヒド→ゲンチスアルデヒド→パツリンであると推論した (Fig. 3). 一方 Scott³⁰⁾ は ²H および ¹⁴C/³H 標識した芳香族前駆物質の変換を質量分析により解析し, ゲンチシル アルコールがパツリンに変換されることを報告した. さらに1974年 Scott と Beadling³¹⁾ はゲンチシル アルコールからゲンチスアルデヒドへの変換を触媒する NADP 依存芳香族脱水素酵素を部分精製した. またゲンチスアルデヒドからパツリンへは dioxygenase と NADPH により生じることを, 細

Fig. 2. Labelling distribution of [1-¹⁴C] acetic acid-derived 6-methylsalicylic acid, modified after Birch *et al.*²⁴⁾

胞抽出液を用いた実験より報告した.³¹⁾

3. パツリンの生合成 (1978~)

1978年以後のパツリン生合成経路は著者らのグループにより明らかにしたので, その概略について述べる.

パツリン生合成変異株の分離と利用 パツリン生合成経路がほぼ解明されたと思われていた頃, 著者らは孢子形成とパツリン生産との関係を調べる手段としてパツリン欠損株の取得を試みていた. *P. urticae* 孢子を突然変異処理し, Ichikawa³²⁾ の方法に準じて4種 (J1, J2, S11, S15) のパツリン欠損変異株を得た.³³⁾ そこで変異株のブロックサイトを生合成経路上に位置づけるため, 薄層クロマトグラフィーで調べたところ, S15 変異株以外の3株は共にゲンチシル アルコールを生産し, また J1, J2 変異株は *m*-ヒドロキシベンジル アルコール, ゲンチシン酸をも生産していた. そこでこれら変異株のブロックサイトを Fig. 3 のプレパツリンの前後と考えた. なお, プレパツリンは生合成上想像しうる hypothetical な中間体である. さらに J1 変異株では顕著に赤色色素を生産していた. そこでまず J1 変異株の作る二次代謝物を精製し, ベンゼンより結晶化を行った.³⁴⁾

植物病原菌産生の生理活性物質とパツリン生合成

この物質は融点 56-57°C の無色針状結晶で, ¹³C, ¹H 核磁気共鳴スペクトルの結果より Fig. 4 に示すエポキシキノンであり, Sakamura³⁵⁾ により分離同定されたフィロスチンと同一物質であった.³⁴⁾ フィロスチンは北海道に発生した赤クローバー黒葉枯病組織より分離された病原菌, *Phyllosticta* sp. の培養液から宿主クローバ葉に対し病徴酷似の症状をひき起こす2種の原因物質 (フィロスチン, フィロシノール) の1つであり, 低濃度でアズキカッティングの不定根生成を顕著に促進し, 宿主植物に対し, 萎凋, 黒変, 病斑形成などの毒性を示し, また植物病原菌をふくめたカビ, バクテリアに幅広い抗菌活性を示すものである.^{36,37)} またフィロスチンは SH 化合物と反応性が高く,³⁷⁾ その上アルカリ状態で不安定で赤色化する.

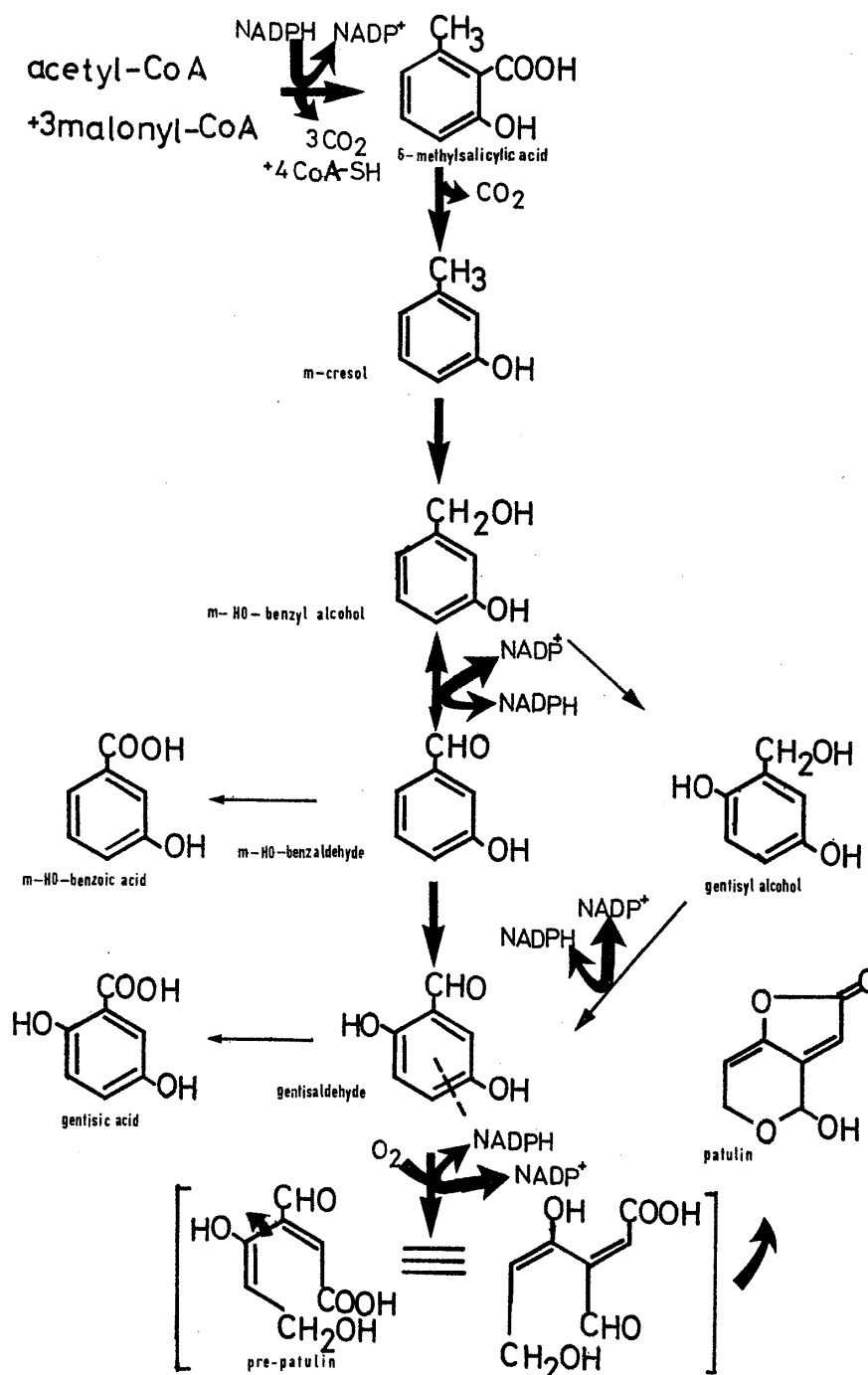
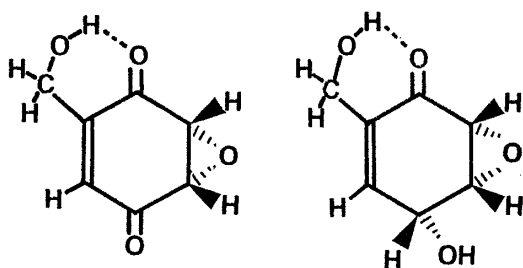


Fig. 3. The pre-1978 patulin biosynthetic pathway, modified after Forrester and Gaucher.²⁹⁾ The postulated structures in a square bracket have not been isolated.

フィロスチンをパツリン生合成上に位置づけるため、 $[^{14}\text{C}]$ -酢酸、 $[\text{H}^3]$ -ゲンチスアルデヒドを J1 変異株に加えたところ、2つの標識ともフィロスチンによく取り込まれた。一方 $[^{14}\text{C}]$ -フィロスチンを野生株に加えた時、放射能はすみやかにパツリンに取り込まれたことより、フィロスチンが予想もしない生合成中間体であった。³⁴⁾それ故ゲンチスアルデヒドの環開裂は Scott

ら³¹⁾の報告した dioxygenase ではなく、monoxygenase によるエポキシ化合物を経由する反応であることになる。

J1 変異株の培養液中にはフィロスチンのほか、(+)-イソエポキシドも蓄積していた。³⁸⁾円旋光二色性、核磁気共鳴スペクトルの解析より、(+)-イソエポキシドの絶対配置を決定した (Fig. 5)。このジアステレ



phyllostine phyllosinol

Fig. 4. Structure of phyllostine and phyllosinol.

オアイソマーである (+)-エポキシドンは最初 Closser³⁹⁾ により報告され、また坂村ら⁴⁰⁾ により分離された前述の植物毒素の1つ、フィロシノールである (Fig. 4)。エポキシドンはまたフィロシチンと同様広範な植物生理活性を有し、⁴¹⁾ Nabeta ら⁴²⁾ の生合成研究よりゲンチシル アルコールが直接の前駆物質であることが報告された。著者らは [¹⁴C]-イソエポキシドンを野生株に与え、パツリンへの放射能取り込みを調べた結果、イソエポキシドンはまたフィロシチンと共にパツリン前駆物質であることを証明した。³⁸⁾ その後 Nagasawa ら⁴³⁾ は罹病したサルスベリの葉から分離したかびにより生産するエポキシドン類縁体の1つとしてイソエポキシドン (彼らはエピエポキシドンと名付けている) を分離し、それがレタス種子の発芽を顕著に抑制することを示した。

フィロシチン、イソエポキシドンを含むエポキシドン類縁体の化学合成は Ichihara ら⁴⁴⁾ により詳細に研究され、Teh-Wei Chou と Ganem⁴⁵⁾ によっても報告された。

フィロシチン、イソエポキシドンの枯草菌に対する抗菌活性はパツリンの81%および56%であった。³⁸⁾

細胞抽出液のパツリン生合成への利用 フィロシチン、イソエポキシドンを生合成経路上で順序づけるために、著者らは feeding 実験の代わりに細胞抽出液を用いた。凍結乾燥した菌体にグリセリン、アルブミンを加えたリン酸緩衝液中で破碎することにより、2つのエポキシ化合物の交換反応を触媒するイソエポキシドン脱水素酵素を調製した。⁴⁶⁾ この酵素は補酵素に NADP を要求し、*p*-クロロマーキュリーベンゾエイト (PCMB) で阻害される。ところで前述の J2 変異株はフィロシチン、イソエポキシドンともパツリンに変換できるため、生合成上のブロックサイトはこれらとゲ

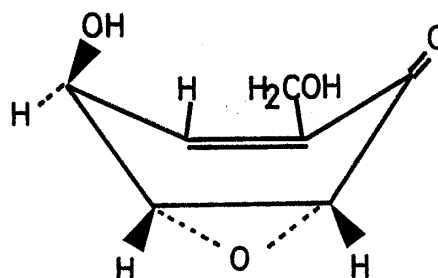


Fig. 5. Structure of isoeoxydon.

ンチスアルデヒドの間である。そこで J2 変異株の細胞抽出液に PCMB とフィロシチン、またはイソエポキシドンを加えてインキュベートすると、フィロシチンは発色剤 (3-メチル-2-ベンゾチアゾリノン-ヒドラゾン) でパツリンとよく似た黄色を呈する未知物質 (Y1~Y3) に変換されたのに対し、イソエポキシドンは変換されなかった。⁴⁶⁾ また未知物質は窒素気流下で反応させた場合にも生成した。それ故、(1) Y1~Y3 のいずれかがパツリン前駆物質であるとすると、イソエポキシドン脱水素酵素が阻害された条件下でもフィロシチンが変換されることより、フィロシチンがイソエポキシドンより一層近いパツリン前駆物質と想定される。(2) フィロシチンを変換する酵素は細胞抽出液中に存在し、反応に酸素を要求しない。(3) J1 株ではこの変換が認められないことより、それらはパツリン生合成上に存在する中間物質と思われた。

不溶化菌体の生合成研究への利用 S11 変異株を培養すると微量ではあるが Y1~Y3 が認められた。そこでフィロシチンの S11 変異株への添加、ならびに細胞抽出液に加えて生成を試みたが、2方法とも数種の物質が生成し、また後者の場合、細胞抽出液中の SH 化合物がフィロシチンと反応して赤色化が激しく精製が困難であった。

一方、酵素反応を短時間に、高基質濃度で行う方法として固定化菌体が有効であることが知られている。そこで野生株をアクリルアミドを用いた包括法により固定化した。⁴⁷⁾ S11 変異株を用いなかったのは、酵素活性が野生株の方が高い理由による。この反応系で都合が良いことには、Y3 が単一生成物であり、また固定化に Y3 以後の酵素が失活し、それ以上反応が進まなかった。基質のフィロシチンは Ichihara ら⁴⁴⁾ の方法に準じ dl 体として合成し、30°C、2時間リン酸緩衝液中でインキュベートすると、天然型 *l*-フィロシチンが特異的に Y3 に変換された。反応に使用したゲルは

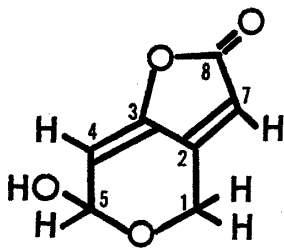


Fig. 6. Structure of neopatulin.

0.01 M, pH 7.0 のリン酸緩衝液中で保存し、1年以上くりかえし使用可能であった。機器分析によりY3 (ネオパツリン≡イソパツリン)の構造を決定した (Fig. 6)。驚くべきことにネオパツリンはパツリンと類似の構造で、パツリンの1位の水酸基が5位に移ったラクトンである。⁴⁷⁾

そこでフィロスチンからネオパツリンへの予想される変換のメカニズムを Fig. 7 に示した。このメカニズムでは酵素や補酵素が関与せず、加水分解によりネオパツリンが生じている。最後のステップにおけるヘミアセタール環形成は非酵素的に作られる可能性も考えられる。

パツリンの最終前駆物質アスクラジオール ネオパツリンからパツリンへの変換反応は、構造上から推定する限り1位から5位へのハイドライドシフトと水酸基の交換反応のように思える。しかしネオパツリンを S11 変異株, S15 変異株に feeding したところ, S11 変異株では全く変換を生じないのに対し, S15 変異株ではパツリンは認められず, その代わりに中間代謝物とおぼしき極性ある物質が認められた。そこで調製用シリカゲル薄層クロマトグラフィーで単一と考えられるまで精製し, 核磁気共鳴スペクトルで調べたところ, 類似の構造を有する2物質のそれぞれのピークが, 互いに 10~36 Hz ずれたと思われるスペクトルを

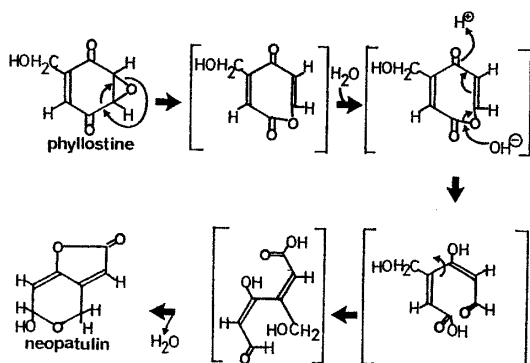
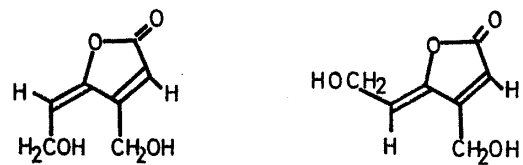


Fig. 7. Proposed mechanism of the conversion of phyllostine to neopatulin.



(E)-ascladiol

(Z)-ascladiol

Fig. 8. Structure of (E)-ascladiol and (Z)-ascladiol.

示した。⁴⁸⁾そこで逆相系の Radial Pak C₁₈ カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーにより2成分 ((E)-アスクラジオール, (Z)-アスクラジオール) を分離した (Fig. 8)。

ここで (E)-アスクラジオールは Suzuki ら⁴⁹⁾により *Aspergillus clavatus* よりパツリンと共に分離されたマイコトキシンであり, パツリンから還元され, 生成した副産物と考えられていたものである。⁵⁰⁾

(E)-アスクラジオールを P3 変異株 (J1 変異株よりさらに突然変異処理して6-メチルサリチル酸合成酵素を欠損させた変異株) に加え, パツリン生産を調べることにより, (E)-アスクラジオールがパツリンに最も近い前駆物質であることを証明した。⁴⁸⁾

(E)-アスクラジオールの非酵素的変換 ネオパツリンから (E)-アスクラジオールへの酵素変換に於ては, 細胞抽出液に NADPH を加える必要があり, 生成物中には常に (Z)-アスクラジオールが (E)-アスクラジオールの 1.3~2 倍含まれていた。そこで (Z)-アスクラジオールの生合成上の役割を調べる1つとして生成条件を検討した結果, (Z)-アスクラジオールが非酵素的に生じることがわかった。さらに詳細に調べたところ, 前述の S15 変異株への feeding 実験では培養液中の

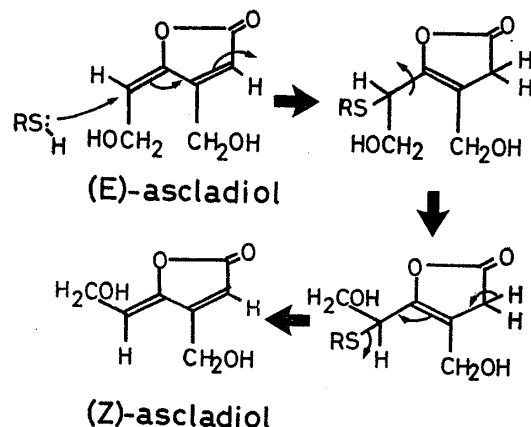


Fig. 9. Proposed mechanism for the reaction of (E)-ascladiol and a sulfhydryl compound.

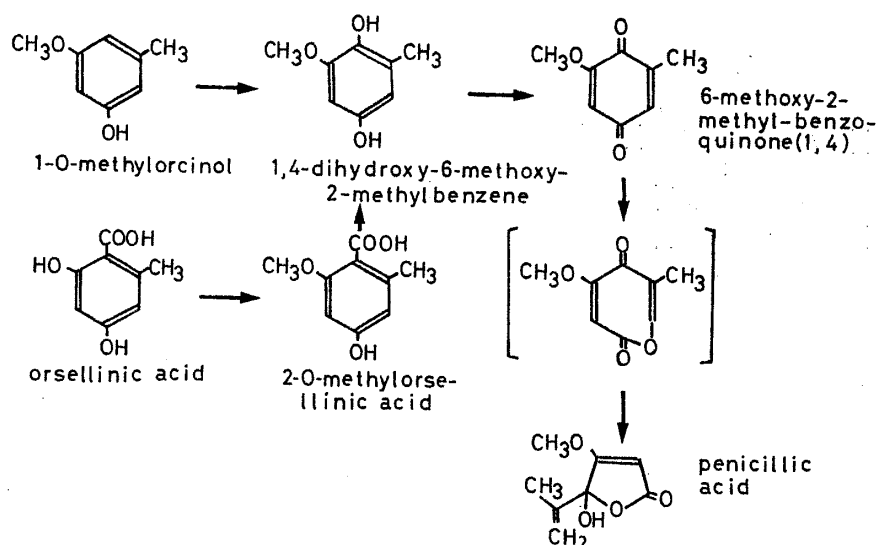


Fig. 10. The biosynthetic pathway of penicillic acid, modified after Axberg and Gatenbeck.⁵²⁾

SH 化合物により、また酵素反応ではそれと共に細胞破碎時に酸化防止剤として加えたジチオスレイトールにより、Fig. 9 に示した機構で (E)-アスクラジオールより生じたものであった (投稿中)。

パツリン生合成の末端酵素 (E)-アスクラジオールからパツリンへの反応はネオパツリンから (E)-アスクラジオールの反応に準じて NADP⁺ 依存の脱水素酵

素と思われたが、PCMB, *N*-エチルマレイイミド等の SH 阻害剤がこの反応を阻害しないこと、細胞抽出液を硫酸塩析した後透析し、さらに 2.5 万以下の分子量を通すコロジオンバッグで濃縮した酵素液は NAD(P) 無添加でも活性を有することより、酸素が水素の受容体になっていると推定した。そこでモノメーターによる酸素吸収の確認、さらに peroxidase-クロモゲン法に

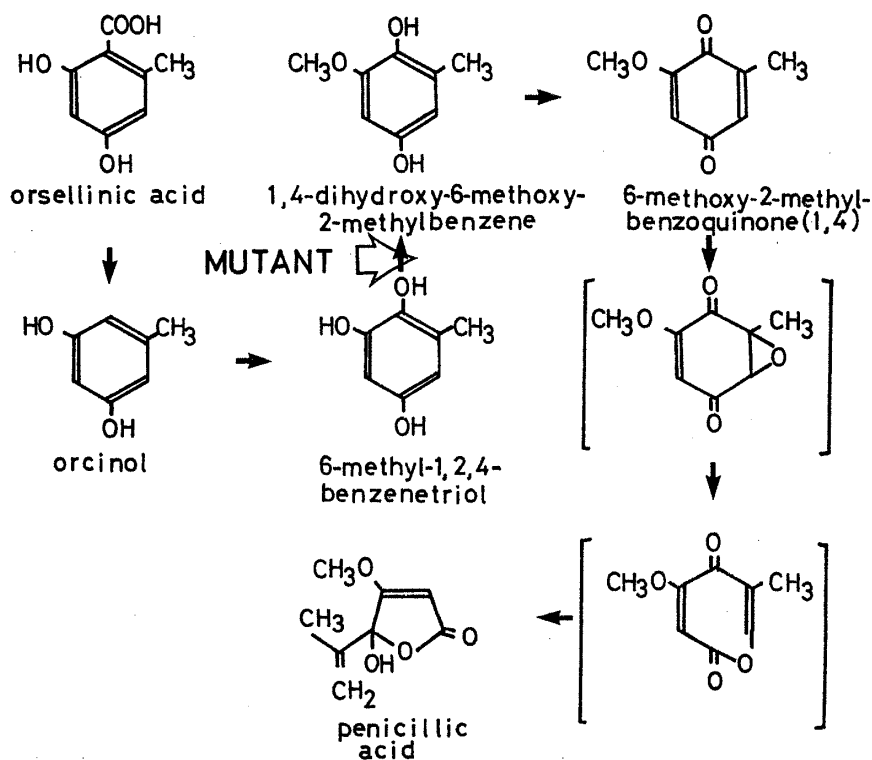


Fig. 11. Proposed pathway of penicillic acid formation.

より過酸化水素の発生が認められたことより、この酵素は(E)-アスクラジオール酸化酵素であると考えられる(未発表)。

4. パツリン生成とペニシリン酸生成の比較

パツリンと同じく α , β -不飽和のラクトン構造を有するかび毒素の1つ、ペニシリン酸は Alsberg と Black⁵¹⁾により分離され、後 Axberg と Gatenbeck⁵²⁾により Fig. 10 に示す生成経路が提案された。その最初の前駆物質であるオルセリン酸はポリケタイド経路により合成され、続いて幾つかの芳香族化合物を経た後6-

メトキシ-2-メチル-ベンゾキノン(1,4)が環開裂してペニシリン酸ができる。このようにペニシリン酸ではベンゾキノンが前駆物質であり、パツリン生成と異なり興味深い。なお、パツリン生成ではゲンチシルキノンはパツリンに変換されない(未発表)。一方ペニシリン酸生成にキノンエポキシ化合物が関与するかどうかは今後の研究に残されているが、最近著者らは *Penicillium cyclopium* NRRL 1888 よりペニシリン酸生成変異株を分離し、この株が6-メチル-1,2,4-ベンゼントリオールを蓄積することを認めた。それ故ペニシリン酸生成経路はますますパツリンと類似した

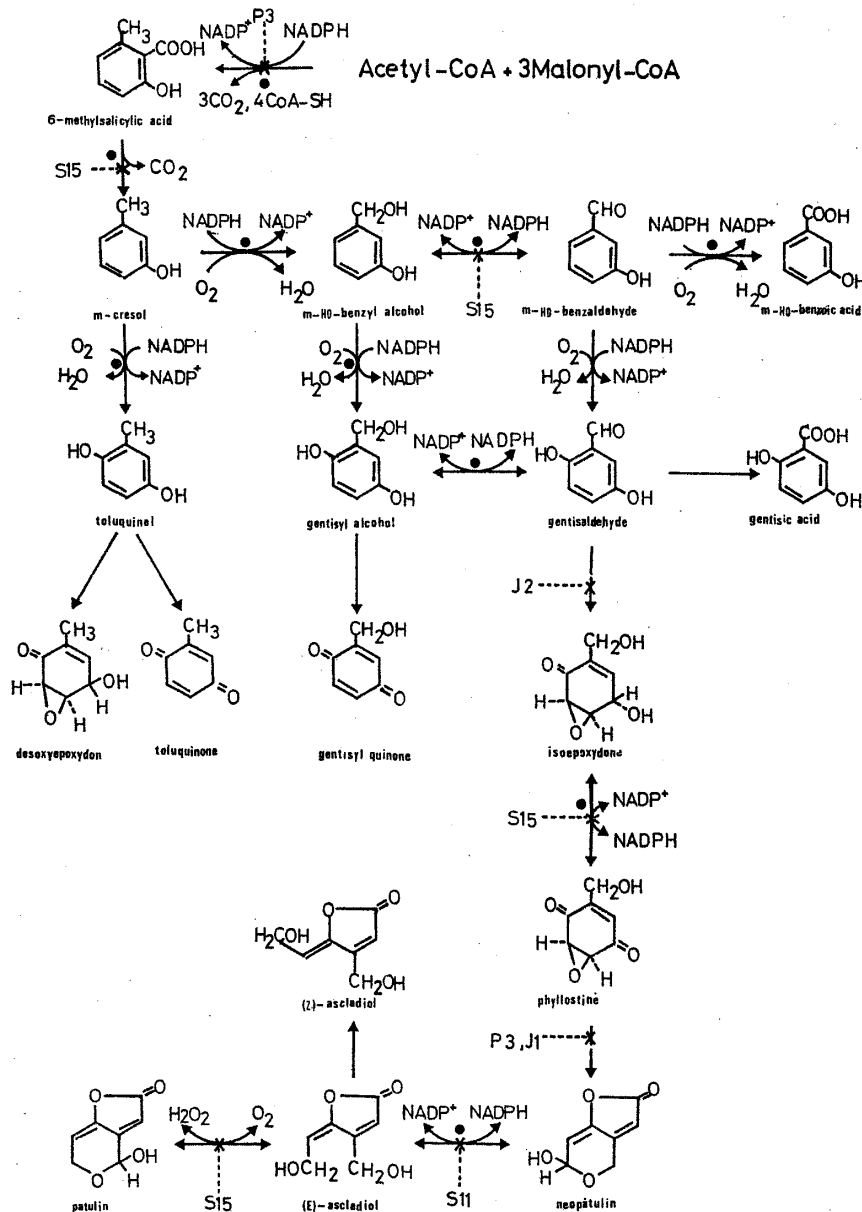


Fig. 12. The biosynthetic pathway of patulin. The positions of mutant blocks (X) and described enzymes (●) are indicated.

Fig. 11 の経路が予想される。なお、ペニシリン酸生合成の詳細については Zamir⁵³⁾ の総説を参照されたい。

5. パツリン生合成の特徴

パツリン生合成の全貌は Fig. 12 に示したように、1977年以前に推定された経路の2倍の経路を経て合成されることが明らかとなり、さらに生合成上の多くの酵素も報告され、ポリケタイド系では勿論のこと、二次代謝物中でも最もよく知られた生合成経路の1つとなった。一方、酵素反応上からは、フィロスチンからネオパツリンに至るエポキシキノンの開裂機構は例をみないものである。その上パツリン前駆体には幾種類もの植物毒素やかび毒素が含まれ、ユニークな生合成経路を形成している。また代謝制御の観点から、パツリン生合成の最終段階の酵素が脱水素酵素ではなく、酸化酵素であることは興味深い。パツリン生合成経路上にある物質を作るかびは多種類に渡り、広く分布しているため、パツリン生合成が微生物そのものの中で果たしている役割について今後明らかにする必要があらう。

本稿の内容の多くの部分は、著者がカルガリー大学 G.M. Gaucher 研究室で行った成果と、大阪大学山田靖宙助教授との共同研究によって得られたものである。フィロスチンの同定に際し、ご協力戴いた北海道大学坂村貞雄教授、市原歌民助教授に深謝致します。

文 献

- Birkinshaw, J. H., Bracken, A., Michael, S. E., Raistrick, H.: *Lancet*, **245**, 625 (1943).
- 宇田川, 鶴田: かびと食物, p. 308, 医歯薬出版, 東京 (1975).
- Frisvad, J. C.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 568 (1981).
- Ciegler, A.: *Microbial Products* (Laskin, A. I., Lechevalier, H. A.), p. 525, Chemical Rubber Co., Cleveland, OH (1973).
- Van Luijk, A.: *Meded. Phytopath. Lab. Scholten*, **14**, 45 (1938).
- Weisner, B. P.: *Nature*, **149**, 356 (1942).
- Chain, E., Florey, H. W., Jennings, M. A.: *Br. J. Exp. Pathol.*, **23**, 202 (1942).
- Scott, P. M., Miles, W. F., Toft, P., Dube, J. G.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **20**, 450 (1972).
- Lindroth, S., Niskanen, A.: *J. Food Sci.*, **43**, 446 (1978).
- 鵜飼, 山本, 山本: 薬学雑誌, **74**, 450 (1954).
- Lindenfelser, L. A., Ciegler, A., Hesseltine, C. W.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 105 (1978).
- Rice, S. L., Beuchat, L. R., Worthington, R. E.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **34**, 791 (1977).
- Singh, J.: *Antibiotics* (Gottlieb, D., Shaw, P. D.), Vol. I, p. 621, Springer-Verlag, New York (1967).
- Scott, P. M.: *Mycotoxins* (Purchase, I. F. H.), p. 383, Elsevier, Amsterdam (1974).
- Detroy, R. W., Still, P. E.: *J. Gen. Microbiol.*, **92**, 167 (1975).
- Ciegler, A., Detroy, R. W., Lillehoj, E. B.: *Microbial Toxins* (Ciegler, A., Kadis, S., Ajl, S. J.), Vol. 6, p. 409, Academic Press, New York (1971).
- Cole, M., Robinson, G. N.: *Appl. Microbiol.*, **24**, 660 (1972).
- Ellis, J. R., Norstadt, F. A., McCalla, T. M.: *Plant and Soil*, **47**, 679 (1977).
- Ueno, Y., Kubota, K.: *Cancer Res.*, **36**, 445 (1976).
- Dickens, F., Jones, H. E. H.: *Br. J. Cancer*, **15**, 85 (1961).
- Woodward, R. B., Singh, G.: *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 758 (1949).
- Hubbard, C. R., Mighell, A. D., Ware, G. M.: *Acta Cryst.*, **B33**, 928 (1977).
- Ehrensvar, G.: *Exp. Cell Res. Suppl.*, **3**, 102 (1955).
- Birch, A. J., Massey-Westropp, R. A., Moye, C. J.: *Aus. J. Chem.*, **8**, 539 (1955).
- Bu'lock, J. D., Ryan, A. J.: *Proc. Chem. Soc.*, 222 (1958).
- Tanenbaum, S. W., Bassett, E. W.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 1861 (1959).
- Lynen, F., Tada, M.: *Angew. Chem.*, **73**, 513 (1961).
- Lynen, F., Engeser, H., Friedrich, J., Schindbeck, W., Seyffert, R., Wieland, F.: *Microenvironments and Metabolic Compartmentation* (Srere, P. A., Estabrook, R. W.), p. 283, Academic Press, New York (1978).
- Forrester, P. I., Gaucher, G. M.: *Biochemistry*, **11**, 1102 (1972).
- Scott, A. I., Zamir, L., Phillips, G. T., Yalpani, M.: *Bioorg. Chem.*, **2**, 124 (1973).
- Scott, A. I., Beadling, L.: *Bioorg. Chem.*, **3**, 281 (1974).
- Ichikawa, T., Date, M., Ishikura, T., Ozaki, A.: *Folia Microbiol.*, **16**, 218 (1971).
- Sekiguchi, J., Gaucher, G. M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 147 (1977).
- Sekiguchi, J., Gaucher, G. M.: *Biochemistry*, **17**, 1785 (1978).
- Sakamura, S., Ito, J., Sakai, R.: *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 153 (1970).
- 坂村: 日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 604 (1981).
- Sakai, R., Sato, R., Ito, J., Sakamura, S.: *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **38**, 290 (1972).

- 38) Sekiguchi, J., Gaucher, G. M.: *Biochem. J.*, **182**, 445 (1979).
- 39) Closse, A., Mauli, R., Sigg, H. P.: *Helv. Chim. Acta*, **49**, 204 (1966).
- 40) Sakamura, S., Niki, H., Obata, Y., Sakai, R., Matsumoto, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 698 (1969).
- 41) Sakai, R., Sato, R., Niki, H., Sakamura, S.: *Plant Cell Physiol.*, **11**, 907 (1970).
- 42) Nabeta, K., Ichihara, A., Sakamura, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 409 (1975).
- 43) Nagasawa, H., Suzuki, A., Tamura, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1303 (1978).
- 44) Ichihara, A., Kimura, R., Oda, K., Sakamura, S.: *Tetrahedron Letters*, No. 51, 4741 (1976).
- 45) Teh-Wei Chou, D., Ganem, B.: *J. Am. Chem. Sci.*, **102**, 7988 (1980).
- 46) Sekiguchi, J., Gaucher, G. M.: *Can. J. Microbiol.*, **25**, 881 (1979).
- 47) Sekiguchi, J., Gaucher, G. M., Yamada, Y.: *Tetrahedron Letters*, No. 1, 41 (1979).
- 48) Sekiguchi, J., Gaucher, G. M., Yamada, Y.: *Advances in Biotechnology*, (Moo-Young, M., gen. ed.; Vezina, C., Singh, K., ed.), Vol. III, p. 107 (Proc. of the Sixth Internatl. Ferment. Symp., London, July 20-25, 1980), Pergamon Press, Toronto (1980).
- 49) Suzuki, T., Takeda, M., Tanabe, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, **19**, 1786 (1971).
- 50) 宇田川, 椿, 堀江, 三浦, 箕浦, 山崎, 横山, 渡辺著: 菌類図鑑(上), p. 160, 講談社, 東京 (1978).
- 51) Alsberg, C. L., Black, O. F.: *U. S. Dept. Agric. Bur. Plant. Ind. Bull.*, 270 (1913).
- 52) Axberg, K., Gatenbeck, S.: *Acta Chem. Scand.* **B29**, 749 (1975).
- 53) Zamir, L. O.: *The Biosynthesis of Mycotoxins—A Study in Secondary Metabolism* (Steyn, P. S.), p. 223, Academic Press, New York (1980).

(昭58. 2. 4受付)