

講演番号：2A17p20

講演日時：3月16日 17:59～ 共通講義棟北 A17 会場

新規 labionen 構造の形成に関与する lanthipeptide 合成酵素の解析

Analysis of lanthipeptide biosynthetic enzymes responsible for formation of novel labionen structure

○菅井 佳宣¹、江畑 一真¹、浅水 俊平¹、後藤 佑樹²、菅 裕明²、尾仲 宏康¹ (1東大院農、2東大院理)

○Yoshinori SUGAI¹, Kazuma Ebata¹, Shumpei Asamizu¹, Yuki Goto², Hiroaki Suga², Hiroyasu Onaka¹ (1Univ. of Tokyo (Agri. life Sci.), 2Univ. of Tokyo (Sci.))

【背景・目的】リボソーム翻訳系翻訳後修飾ペプチド (RiPPs) は広範な構造多様性を持つ巨大な天然化合物群の一つである。この中には強力な生理活性を示すものも多く含まれ、有用な医薬探索源とされている。*Streptomyces* sp. TP-A0584 のゲノム中には RiPPs の一種である lanthipeptide の生合成酵素遺伝子 (*lbeKC*) がコードされており、塩基配列情報から labionin 環 (Lab) 構造を形成する修飾反応に関与することが予想された。その近傍には aminovinyl-cysteine (AviCys) の生合成に関与する酸化的脱炭酸酵素遺伝子 (*lbeD*) が存在していた。これまでにこのような酸化的脱炭酸酵素と単環性の lanthionin (Lan) 合成酵素との組み合わせで生合成される化合物は知られていたが、二環性の Lab 合成酵素との組み合わせは報告が無いため、これら酵素の機能に興味を持たれた。本研究ではこの新規ペプチド化合物の生合成経路を解析し、特異な分子構造の生合成機構の解明を目的とした。

【方法】既に確立していた目的生合成遺伝子クラスターの異種発現系を用いて化合物の生産を行った。培養抽出物から目的ペプチドを単離、精製し各種機器分析により構造の決定を行った。RiPPs の修飾反応に関与すると予想された2つの遺伝子はそれぞれ大腸菌を用いて組換え酵素として調製した。*In vitro* 翻訳系を用いて前駆体ペプチドやアミノ酸残基を置換したアナログペプチドを調製し、これを基質に酵素反応を行なった。反応生成物は MALDI-TOF-MS で解析し、脱水、酸化的脱炭酸反応の進行を確認した。また、脱水反応によって形成される dehydroalanine 残基の二重結合は環化反応により消失するため、これを誘導体化して検出することで環化反応の進行を確認した。

【結果・考察】異種発現系を用いて生産したペプチド化合物を機器分析したところ、8 アミノ酸残基からなる環状ペプチドであった。さらに Lab 構造内の Lan が AviCys となった新規構造であることが示されたため、この構造を labionen (Lbe) と命名した。組換え酵素を用いた解析から、LbeD の反応により酸化的脱炭酸反応が進行し、そこに LbeKC を加えることにより3回の脱水反応が進行したことが示された。この反応生成物の環化状態を解析したところ、二環性の構造 (Lbe) が形成されていた。一方で、前駆体ペプチドに LbeKC のみを反応させたところ3回の脱水反応は進行したが、生成物は単環性の Lan 構造だった。前駆体ペプチドのアミノ酸配列から、Lan 構造は大きな環と小さな環を形成する可能性があったため、アミノ酸残基を置換したアナログペプチドを用いて解析した。その結果、いずれのサイズの Lan 構造も形成されうる事が示された。以上の結果から、LbeD との連続反応により LbeKC の酵素反応が単環性の Lan 形成から二環性の Lab 形成様へとスイッチすることが示された。

RiPPs, Lanthipeptide, Biosynthesis

発表責任者：尾仲宏康 (aonaka@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)