

ポリグルタミン酸生合成におけるエピメリ化酵素の同定

Epimerase involved in polyglutamic acid biosynthesis

○加藤 陽菜多<sup>1</sup>、小笠原 泰志<sup>2</sup>、大井 徹<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北大院総化、<sup>2</sup>北大院工)

○Hinata KATO<sup>1</sup>, Yasushi OGASAWARA<sup>2</sup>, Tohru DAIRI<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Grad. Sch. Chem. Sci. Eng., Hokkaido Univ., <sup>2</sup>Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ.)

**研究背景)** ポリ- $\gamma$ -グルタミン酸 (PGA) は、*Bacillus* 属細菌により生産される D,L-グルタミン酸 (Glu) の混合ポリマーである。PGA の生合成には 4 つの酵素 PgsB、PgsC、PgsA、PgsE の関与が示されているが、いずれも膜酵素であり *in vitro* での機能解析は殆ど行われていない。最近当研究室でペプチド系天然物 MS-271 の生合成に関わる新規ペプチドエピメラーゼ MslH を見出しており、これが PgsA と高い相同性を有することから、PGA の生合成においても PgsA によるポリ-L-Glu のエピメリ化反応で混合ポリマーを生合成する可能性が考えられた。これまで、標識 Glu の投与実験により、PGA の生合成にエピメリ化反応が関与することを実証したが<sup>[1]</sup>、PgsA がエピメリ化酵素である証拠はない。本研究では、PGA 生産菌により PGA 中の D-Glu 含有率が異なることを利用し、PgsA を入れ替えることにより、D-Glu 含有率が変化するかどうか検討した。

**方法・結果および考察)** PGA の D-Glu 含有率は、*Bacillus megaterium* では 60%、*Bacillus anthracis* では 100%である。そこで、*pgsB*、*pgsC*、*pgsA*、*pgsE* について、それぞれ *B. megaterium* と *B. anthracis* 由来の遺伝子を組み合わせたプラスミドを構築し、大腸菌で PGA を異種生産した。生産された PGA 中の D-Glu の比率を分析した結果、*pgsA* の由来によって D-Glu 含有率が変化したことから、予想通り PgsA がエピメリ化反応を触媒することが示唆された。

Poly- $\gamma$ -glutamic acid (PGA) is a natural polymer of D- and L-glutamic acid (Glu) linked by isopeptide bonds. PGA is biosynthesized by a transmembrane enzyme complex composed of PgsB, PgsC, PgsA and PgsE. However, *in vitro* functional characterization of each enzyme has never been successful. Recently, we demonstrated that MslH, a homolog of PgsA, was a novel cofactor-independent peptide epimerase responsible for the biosynthesis of a D-tryptophan-containing lasso peptide natural product, MS-271. In addition, our isotope tracer experiments revealed the involvement of peptide epimerization in PGA biosynthesis as L-Glu was the sole substrate for the biosynthesis of DL-PGA.<sup>[1]</sup> However, whether PgsA catalyzes the epimerization has not been established. In the present study, we demonstrated that PgsA played an important role in controlling the D/L-ratio in PGA product.

[1] Y. Ogasawara et al. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 3972.

polyglutamic acid, enzyme, epimerase

発表責任者：大井徹 (dairi@eng.hokudai.ac.jp)