

講演番号：3E11a05

講演日時、会場：3月28日 09:44～ E 校舎 11 会場

テロメスタチン生合成遺伝子クラスターの異種発現

Heterologous Expression of Telomestatin Biosynthetic Gene Cluster

○天貝 啓太^{1,2}、柴崎 典子²、高木 海²、工藤 史貴³、江口 正³、長田 裕之²、池田 治生⁴、新家 一男⁵、高橋 俊二² (1次世代天然物化学技術研究組合、²理研 CSRS・ケミカルバイオロジー、³東工大院理工、⁴北里大・生命研、⁵産業技術総合研究所)

○Keita AMAGAI^{1,2}, Noriko SHIBAZAKI², Hiroshi TAKAGI², Fumitaka KUDO³, Tadashi EGUCHI³, Hiroyuki OSADA², Haruo IKEDA⁴, Kazuo SHIN-YA⁵, Shunji TAKAHASHI² (1Technology Research Association for Next generation natural products chemistry, 2RIKEN CSRS, Chemical Biology, 3Tokyo Institute of Technology, 4Kitasato Univ., 5AIST)

【目的】テロメスタチンは放線菌 *Streptomyces anulatus* 3533-SV4 から単離された、強力なテロメラゼ阻害活性を有する化合物である。その生理活性の高さから抗がん剤としての開発が期待されていたが、生産量が非常に少なく、また全合成も非常に困難であることから、応用研究を行うためのテロメスタチンの確保が困難であった。我々はこの問題を解決する策として、テロメスタチン生合成遺伝子クラスターを生産菌ゲノムDNAから探索・同定し、転写活性化する遺伝子操作を施すことにより、二次代謝産物高生産株で異種発現・高生産させることを試みた。

【手法・結果】テロメスタチンはリボソームにより合成された比較的小さなペプチドが種々の修飾反応を受けて完成する、RiPPs (Ribosomally synthesized and Post-translationally modified Peptide natural products) と呼ばれる天然物と同様の機構で生合成されと考えられた。そこでテロメスタチン生産菌ゲノムDNA配列情報から、化合物の構造を形作る特徴的なアミノ酸配列を含む小さなタンパク(プレカーサーペプチド)をコードする遺伝子と共に、分子内環化酵素、アゾリン骨格をアゾール骨格へと変換する酵素、プレカーサーペプチドからコアペプチドを切り出し、環化させるペプチダーゼをコードする遺伝子を探索した。その結果、先に示した酵素遺伝子群を内包しており、転写方向が単一の遺伝子クラスターを見出した。よってこの領域をテロメスタチンの生合成遺伝子群と推定し、 λ -RED 相同組換え法による遺伝子クラスターの最小化、ならびに転写を活性化させるプロモーターを上流に配置し、二次代謝産物高生産株 *Streptomyces avermitilis* SUKA へ導入、培養を行い、代謝産物の解析を行った。その結果、テロメスタチンと同一の m/z 値を有するピークを検出することができ、これがテロメスタチンであることを確認した。またコアペプチド部分をインフレームで削除したところ、テロメスタチンの生産は消失した。さらに生産培地を検討したところ、テロメスタチンの生産力価を増大させることにも成功した。

telomestatin, heterologous expression