



非リボソーム型ペプチドにおける新規環化酵素 New Family of Offloading Cyclase in Non-Ribosomal Peptide Biosynthesis

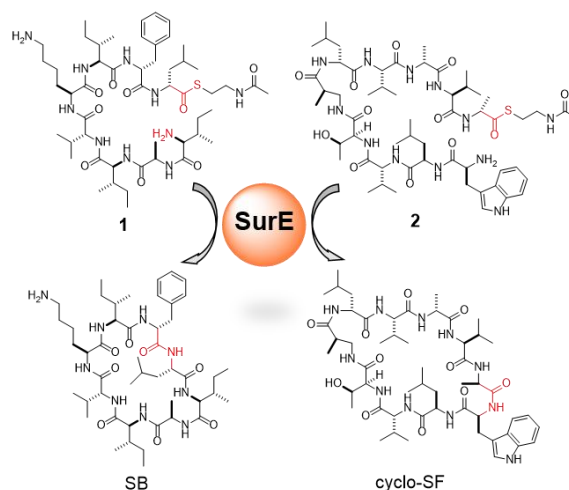
小林雅和、佐野文映、松田研一、倉永健史、脇本敏幸
(北大院薬)

海洋放線菌から単離された環状オクタペプチド surugamide A-E (SA-SE)は、非リボソーム型ペプチド合成酵素 (NRPS) SurA/SurD によって生合成される^{1,2}。さらに同クラスター中にコードされた別の NRPS である SurB/SurC によって、SA-SE とは構造的に全く異なる直鎖デカペプチド surugamide F (SF)が生合成される²。通常、NRPS ではタンパク質 C 末端に存在する TE ドメインによりチオエステル中間体が環化・放出されるが、本クラスター中の NRPS 遺伝子は TE ドメインを欠いており、新たな環化様式の存在が示唆された。そこで、本研究では surugamide 生合成における環化過程の解明を目指した。

Surugamide 類の生合成遺伝子クラスター中に NRPS とは別にコードされた SurE は penicillin binding protein (PBP)と相同性を示す。PBP は一般に、酵素中の Ser 残基を介して基質-酵素複合体を形成し、ペプチド結合の形成や加水分解を触媒する。本機構は TE ドメインのそれと類似していることから、SurE が NRPS からのペプチド鎖中間体の環化放出に関わる可能性が考えられた。これを検証するため、大腸菌を発現宿主として調製した SurE 組換えタンパク質と、化学合成したチオエステル中間体模倣化合物 **1** を混合し、*in vitro* 酵素反応を行った。

HPLC 分析の結果、SurE を添加した反応系において酵素依存的な SB の生成が観察された。このことから、NRPS モジュールから独立してコードされた SurE が SA-SE 生合成においてチオエステル中間体の head-to-tail 環化を伴った放出を担う新たな機能ドメインであることが明らかとなった。さらに、モデル基質を用いた *in vitro* アッセイにより、SurE は C 末端に D アミノ酸を含む基質ペプチドを選択的に認識し、環化を触媒することが判明した。

SF 生合成を担う SurB/SurC も TE ドメインを欠くことから、SurE が SF 生合成におけるペプチド鎖中間体の放出にも関与する可能性を考え、これを検証するために合成基質 **2** を用いた *in vitro* アッセイを行った。その結果、酵素依存的な **2** の消費と環状 SF と考えられる化合物が SurE 依存的に生成した。このことから SurE は SA-SE に加えて SF 生合成における環化放出過程をも担う、寛容な基質特異性を有するペプチド環化酵素であることが強く示唆された。今後 SurE のより詳細な機能解析を通じて、ペプチド環化触媒としての応用展開が期待される。



<参考文献>

- 1) K. Takada, A. Ninomiya, M. Naruse, Y. Sun, M. Miyazaki, Y. Nogi, S. Okada, S. Matsunaga, *J. Org. Chem.* 2013, 78, 6746-6750.
- 2) A. Ninomiya, Y. Katsuyama, T. Kuranaga, M. Miyazaki, Y. Nogi, S. Okada, T. Wakimoto, Y. Ohnishi, S. Matsunaga, K. Takada, *ChemBioChem* 2016, 17, 1709-1712.

発表者紹介

氏名 小林 雅和 (こばやし まさかず)
所属 北大薬学部薬科学科
学年 B4
研究室 天然物化学研究室

