

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |   |
|-------------------|---|
| 題目(和文)            | マクロラクタム抗生物質ビセニスタチンのアミノ酸スターター部位の生合成機構  |
| Title(English)    | Study on the biosynthetic pathway for the -amino acid starter unit of macrolactam polyketide antibiotic vicenistatin  |
| 著者(和文)            | 篠原雄治  |
| Author(English)   | Yuji Shinohara  |
| 出典(和文)            | 学位:博士(理学),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第9399号,<br>授与年月日:2014年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:江口 正,藤本 善徳,小松 隆之,工藤 史貴,草間 博之   |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Science),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第9399号,<br>Conferred date:2014/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>Examiner:,,,, |
| 学位種別(和文)          | 博士論文  |
| Category(English) | Doctoral Thesis   |
| 種別(和文)            | 審査の要旨   |
| Type(English)     | Exam Summary  |

## 論文審査の要旨及び審査員

| 報告番号        | 甲第  | 号     | 学位申請者氏名 | 篠原 雄治 |     |
|-------------|-----|-------|---------|-------|-----|
| 論文審査<br>審査員 |     | 氏名    | 職名      |       |     |
|             | 主査  | 江口 正  | 教授      | 草間 博之 | 准教授 |
|             | 審査員 | 藤本 善徳 | 教授      |       |     |
|             |     | 小松 隆之 | 教授      |       |     |
|             |     | 工藤 史貴 | 准教授     |       |     |

## 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「マクロラクタム抗生物質ビセニスタチンのアミノ酸スターター部位の生合成機構」と題し、以下の 5 章から構成されている。

第一章「序論」では、本研究の背景となる抗生物質生合成研究の概要、特に有用な生理活性物質が多く見出されているポリケチド化合物を取り上げ、その生合成研究の重要性について述べている。ポリケチド化合物の開始基質の構造には多様性があるが、 $\beta$ -アミノ酸を開始基質とするマクロラクタムポリケチド化合物の生合成に関して遺伝子・酵素レベルでの知見は少ないことを指摘している。その上で、放線菌 *Streptomyces halstedii* HC34より単離された 20 員環マクロラクタム配糖体抗生物質であるビセニスタチンに着目し、先行研究の結果を述べると共に推定した生合成機構を提唱している。また、ビセニスタチン生合成の解明により、遺伝子操作による新規化合物創製の可能性にも言及している。

第二章「ビセニスタチン生合成研究」では、ビセニスタチンの  $\beta$ -アミノ酸スターター部生合成について、酵素レベルで解析した結果について述べている。 $\beta$ -アミノ酸スターター部生合成には 8 つの生合成酵素 VinH, I, J, K, L, M, N, O が関わると予想し、機能解明済みの VinH, VinI 以外の 6 つの酵素を大腸菌にて異種発現させ、精製酵素を用いて *in vitro* での機能解析を行っている。アデノシン-5'-三リン酸 (ATP) 依存型アデニル化酵素 VinN は、3-メチルアスパラギン酸を基質として、アシルキャリアプロテイン (ACP) VinL のアミノアシル化反応を触媒することを明らかにしている。次にピリドキサル-5-リン酸依存型脱炭酸酵素 VinO が VinL に結合した 3-メチルアスパラギン酸の脱炭酸反応を触媒し、ビセニスタチンのスターターである 3-アミノ-2-メチルプロピオン酸 (Amp) 部位を構築することを明らかにしている。続いて ATP 依存型アデニル化酵素 VinM がアラニン (Ala) を基質として Amp-VinL のアミノアシル化反応を触媒し、Ala-Amp-VinL を生成することを明らかにしている。構築された Ala-Amp-VinL はアシル基転移酵素 VinK により認識され、ポリケチド合成酵素 (PKS) のローディングモジュールである VinPIACP 部へとそのジペプチド構造が転移されることを見出ししている。さらにアミド加水分解酵素 VinJ が、基質アナログ体である N-アラニル-セコビセニラクタムエチルエステルの速やかなペプチド結合の加水分解反応を触媒することから、VinJ は PKS 上に存在する N-アラニル-セコビセニラクタムチオエステル中間体のペプチド結合を加水分解し、その後 PKS の末端に存在するチオエステラーゼドメインによってマクロラクタム環であるビセニラクタムの構築が完了すると述べている。従って、ビセニスタチンスターター生合成は、スターター部位である  $\beta$ -アミノ酸がアシル化され、後にアシル基が除去されるという保護-脱保護反応が利用されると結論づけ、これまでにない生合成機構であると述べている。

第三章「スターター生合成酵素群の結晶化および X 線結晶構造解析」では、スターター部生合成酵素の X 線結晶構造解析を試み、アシル基転移酵素 VinK とアミド加水分解酵素 VinJ の X 線結晶構造解析に成功したと述べている。VinK の構造解析により、VinK にはジペプチド部位が結合可能な比較的広いポケットが存在しており、このことが選択的にジペプチジル-VinL を認識する理由であると述べている。また、VinJ の構造から、長鎖のポリケチド鎖の認識に関わる疎水的なトンネルの存在が明らかとなり、ジペプチド部位の加水分解反応が進行するタイミングが PKS における炭素鎖伸長反応の終期であると結論づけている。

第四章「ビセニスタチン類縁体の創出」では、*vinI* 遺伝子破壊株にインセドニン生合成に関与する *idnL1* 遺伝子を導入した株を構築し、R5 固形培地で培養後、3-アミノブタン酸を投与し、代謝産物の解析を行ったことを述べている。LC-ESI-MS での解析により、3-アミノブタン酸を投与したときに新たなピークが検出されたことから、3-アミノブタン酸をスターター部位とするビセニスタチン類縁体の生産に成功したと述べている。

第五章「総括」では、本研究で得られた知見を総括すると共に  $\beta$ -アミノ酸の生合成に関わる酵素遺伝子を利用する新規  $\beta$ -アミノ酸含有型マクロラクタムの創製に関する展望についても述べている。

以上要するに、本論文はマクロラクタム抗生物質ビセニスタチンのスターター部の生合成機構を酵素レベルで明らかにしたものであり、また、マクロラクタム生合成系を利用した類縁体創出の可能性を示したものである。これらの知見は天然物有機化学、生物有機化学的に重要な知見であり、理学上の貢献は大きい。よって本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値があるものと認められる。