

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	抗腫瘍抗生物質パクタマイシンの生合成に関わるアミノ基転移酵素の機能解析
Title(English)	
著者(和文)	平山茜
Author(English)	Akane Hirayama
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10416号, 授与年月日:2017年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:江口 正,豊田 真司,植草 秀裕,後藤 敬,工藤 史貴
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10416号, Conferred date:2017/3/26, Degree Type:Course doctor, 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

(博士課程)

## 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	平山 茜	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	江口 正	教授	工藤 史貴	准教授
	審査員	豊田 真司	教授		
		植草 秀裕	准教授		
	後藤 敬	教授			

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「抗腫瘍抗生物質パクタマイシンの生合成に関わるアミノ基転移酵素の機能解析」と題し、以下の4章から構成されている。

第1章「序論」では、本研究の背景となる天然生理活性物質の生合成研究の概要を述べている。特に、臨床上有用な化合物群が含まれるアミノサイクリトール系抗生物質を取り上げ、生合成研究の重要性について述べている。アミノサイクリトール系抗生物質は炭素六員環含有型と炭素五員環含有型とが知られており、古くから生合成研究がなされているが、炭素五員環含有型アミノサイクリトール系抗生物質の生合成に関する遺伝子・酵素レベルでの知見が乏しいことを指摘している。その上で、放線菌 *Streptomyces pactum* より単離された炭素五員環含有型アミノサイクリトール系抗生物質であるパクタマイシンに着目し、その生合成経路解明の重要性について述べている。

第2章「パクタマイシン生合成における窒素原子導入機構」では、パクタマイシンの持つ窒素原子の導入機構について、同位体標識前駆体の投与実験と *in vitro* での酵素反応によって解析した結果について述べている。パクタマイシンの炭素五員環骨格の1位と3位に結合している窒素原子がピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) 依存型アミノ基転移酵素によって導入されると予想し、生合成遺伝子クラスター中に含まれる2つのPLP依存型酵素を中心とする4つの生合成酵素 PctC、PctL、PctP、および PctV を大腸菌にて異種発現させ、精製した酵素を用いて機能解析を行っている。まず、2つのPLP依存型酵素 PctC と PctV の機能を調べることで、PctV が一次代謝産物である3-デヒドロシキミ酸に対するアミノ基転移反応と2度の脱水反応を触媒して、パクタマイシンの3-アミノアセトフェノン部位の前駆体である3-アミノ安息香酸を生成することを明らかにしている。次に重水素標識した3-アミノ安息香酸と3-アミノアセトフェノンをパクタマイシン生産菌へと投与し、培養液からパクタマイシン類縁体を単離することで、これまで糖転移酵素 PctL の基質であると考えられてきた3-アミノアセトフェノンがパクタマイシンの生合成中間体ではないと述べている。続いて、糖転移酵素 PctL の基質特異性を調べることで、PctL の真の基質はアシル基運搬タンパク質と結合したβ-ケトチオエステル体であると提唱している。さらに、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド依存型脱水素酵素 PctP と PLP 依存型酵素 PctC の機能を調べることで、*N*-アセチルグルコサミンとアニリン類縁体との *N*-グリコシドが PctP と PctC によって触媒されて、糖部位の3位の水酸基がアミノ基へと変換されることを見出している。また、PctP の基質特異性を調べることで、*N*-グリコシドの糖部位に対して起こる最初の修飾反応は PctP と PctC によるアミノ基導入反応だと提唱している。

第3章「PLP 依存型3-アミノ安息香酸合成酵素 PctV の精密反応機構解析」では、多段階反応を触媒する PctV の詳細な反応機構を、部位特異的変異体酵素の反応速度解析と酵素の結晶構造解析の結果に基づいて提唱している。すなわち、まず結晶構造に基づいて各種変異体酵素を作製し、リシン 276 に関する変異体酵素でのみ3-アミノ安息香酸が生産されなくなることを示し、さらに K276R 変異体酵素を用いた反応ではキノノイド中間体が蓄積することを見出し、変異体酵素との共結晶構造を得ることでキノノイド中間体の構造を明らかにしている。これらの結果に基づいて PctV の反応機構を提唱しており、アミノ基転移反応だけではなく、PctV の反応に特有な2度の脱水反応も PLP 依存型酵素に保存されている276番目のリシン残基によって触媒されることを明らかにしている。

第4章「総括」では、本研究で得られた知見を総括するとともに、本研究で得られた結果に基づいてパクタマイシンの生合成機構を提唱している。

以上要するに、本論文はパクタマイシンの生合成機構を明らかにするとともに、生物が広く利用している PLP 依存型酵素の新たな一面を示したものである。これらの知見は天然物有機化学ならびに生物有機化学の分野において重要な知見であり、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に価値があるものと認められる。