

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	炭素-炭素結合形成反応を触媒するラジカルS-アデノシル-L-メチオニン酵素の機能解析
Title(English)	
著者(和文)	佐藤秀亮
Author(English)	Shusuke Sato
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11882号, 授与年月日:2021年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:江口 正,岩澤 伸治,後藤 敬,豊田 真司,工藤 史貴
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11882号, Conferred date:2021/3/26, 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	佐藤 秀亮	
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	岩澤 伸治	教授		
		後藤 敬	教授		
豊田 真司		教授			

### 論文審査の要旨(2000字程度)

本論文は「炭素-炭素結合形成反応を触媒するラジカルS-アデノシル-L-メチオニン酵素の機能解析」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ラジカルS-アデノシル-L-メチオニン (SAM) 酵素に関する研究の概要を述べている。天然物の生合成において、官能基変換過程だけではなく、炭素骨格の構築にもラジカルSAM酵素によるラジカル反応が利用されていることに着目し、炭素-炭素結合形成反応を触媒するラジカルSAM酵素の機能解明の重要性について述べている。

第2章「ホスホマイシン生合成においてC-メチル化反応を触媒するコバラミン依存ラジカルSAM酵素Fom3の機能解析」では、抗菌薬として使用されているホスホマイシンの生合成について概観し、未解明であったFom3が触媒するC-メチル化反応の基質と生成物の構造を決定し、さらにその反応機構を提唱したことについて述べている。まず、大腸菌にて異種発現させたFom3を嫌氣的に精製し、シチジリル化した2-ヒドロキシエチルホスホン酸 (HEP-CMP) を基質として反応させることにより、シチジリル2-ヒドロキシプロピルホスホン酸 (HPP-CMP)、5'-デオキシアデノシン (5'-dA)、S-アデノシルホモシステインが等量生成することを明らかにしている。シチジリル化されていないHEPをHEP-CMPの代わりに基質として反応させた時には5'-dAが検出されなかったことから、Fom3の基質認識においてCMP部分が重要であると述べている。さらに、キラルHPLC解析の結果から、形成されたHPP-CMPのC-2位の立体化学をS配置と帰属している。また、キラル重水素化基質を合成し、それらを用いた反応解析の結果から、5'-デオキシアデノシルラジカル (5'-dA $\cdot$ ) が基質のC-2位のpro-Rの水素原子を立体選択的に引き抜くことを明らかにしている。以上の結果より、Fom3が触媒するC-メチル化反応はC-2位の立体化学の反転を伴って進行すると結論づけている。

第3章「細菌の膜脂質成分バクテリオホパンポリオール側鎖生合成の初発段階を担うラジカルSAM酵素HpnHの機能解析」では、バクテリオホパン生合成におけるラジカルSAM酵素HpnHが触媒する炭素-炭素結合形成反応の機構を提唱したことについて述べている。まず、スクアレン-ホペン環化酵素とHpnHを共発現させた大腸菌の無細胞抽出液を用いて、反応系中にてスクアレンをジプロプテンに変換し、HpnHと反応させることにより、(22R)-アデノシルホパンが形成されることを明らかにしている。さらに、HpnHを嫌氣的に精製し、ジプロプテンを基質として高濃度の界面活性剤存在下で反応させることで(22R)-アデノシルホパンが形成されたことから、HpnHがジプロプテンのC-29位と5'-dAのC5'位の間に新たな炭素-炭素結合を形成する反応を触媒すると述べている。また、重水を用いた実験の結果から、炭素-炭素二重結合への5'-dA $\cdot$ の付加によって形成されるラジカル中間体の還元、水とのプロトン交換可能な官能基を持つアミノ酸残基が関与すると推定し、ホモログ間に保存されるシステイン (Cys)あるいはチロシン残基を変異させたHpnH変異体を調製して、反応解析を行なっている。Cys106を変異させた場合に活性が著しく低下したこと、およびCys106変異体によって(22R)-アデノシルホパンと(22S)-アデノシルホパンの両方が形成されていたことから、Cys106が水素供与残基であり、生成物のC-22位の立体化学を決定する残基であると述べている。

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Fom3およびHpnHが触媒する炭素-炭素結合形成反応の機構を提唱し、天然物の炭素骨格の構築に関わるラジカルSAM酵素について展望している。

以上要するに、本論文はFom3とHpnHの機能を明らかにすることによって、普遍的なラジカルSAM酵素による炭素-炭素結合形成反応の機構を解明したものである。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、理化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。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポータル(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。