

氏名

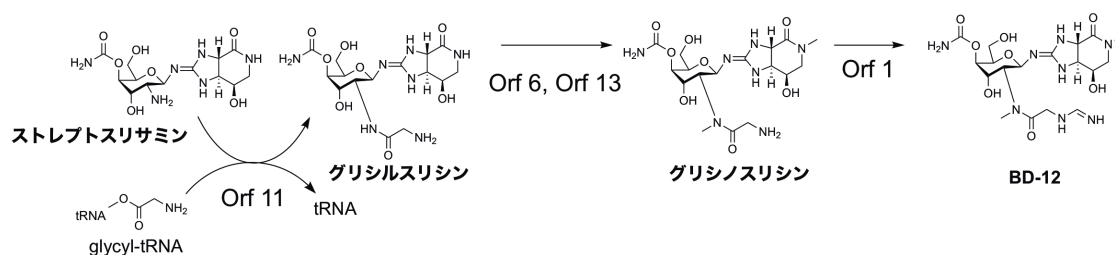
新倉 春香

(論文内容の要旨)

抗生物質 BD-12 はストレプトスリシン (ST) 類縁抗生物質の 1 つであり、*Streptomyces luteocolor* NBRC13826 によって生産される。その化学構造の特徴は、グリシン誘導体 (*N*-ホルムイミドイルグリシン) 側鎖を有していることであり、他方、ST は 1~7 残基の β -リジンオリゴペプチド側鎖を有している。BD-12 及び ST は両者共に強力な抗菌活性を示すが、真核生物へも毒性を示すため医薬品として利用されていない。本研究では、特徴的な化学構造を有する BD-12 の生合成酵素および遺伝子の機能解析を行い、生合成経路を解明した。第 1 章では BD-12 のグリシン側鎖、第 2 章では 2 つのメチル基、第 3 章では *N*-ホルムイミドイル基の生合成酵素の同定と機能解析を行った。さらに、BD-12 生合成遺伝子と ST 生合成遺伝子を組合せたコンビナトリアル生合成によって新規抗生物質を創製した。

【第 1 章 tRNA 依存性アミド合成酵素 (Orf 1) の機能解析】

ST の β -リジン側鎖は、非リボソーム型ペプチド合成酵素 (NRPS) によって生合成されることが報告されている (*Nat. Chem. Biol.*, 8, 791-797, 2012)。そこで、グリシン側鎖の生合成についても NRPS で生合成されるか検証したところ、興味深いことに、新規酵素 Orf 11 が一次代謝であるタンパク質翻訳系から Gly-tRNA^{Gly} をハイジャックし、それを基質にグリシルスリシンを生成することを明らかにした。よって、ST 類縁抗生



物質を生産する放線菌は、 β -リジン（非タンパク性アミノ酸）の側鎖構造を生合成する場合は NRPS システムを利用し、グリシン（タンパク性アミノ酸）の側鎖構造を生合成する場合は tRNA 依存的アミド合成酵素を利用する巧みな生合成戦略を装備していることを明らかにした。

【第 2 章 メチル基転移酵素（Orf 6, Orf 13）の機能解析】

BD-12 生合成遺伝子群におけるメチル基転移酵素遺伝子（*orf 6*と *orf 13*）について、ST-F の生合成遺伝子群との共発現（コンビナトリアル生合成）により機能解析を行った。その結果、*orf 6* 遺伝子と *orf 13* 遺伝子は、それぞれグリシルスリシンのストレプトリジンラクタム環と糖アミドのメチル化に関与することを明らかにした。さらに興味深いことに、コンビナトリアル生合成で創出された新規化合物 *N,N'*-ジメチル-ST-F は、抗菌活性を示すとともに真核生物への毒性が ST よりも顕著に緩和された。さらに、ST 耐性菌に対しても有効であることが示唆されており、目的の化合物を論理的に生合成リデザインできた重要な成功例と言える。

【第 3 章 *N*-ホルムイミドイル基転移酵素（Orf 1）の機能解析】

BD-12 生合成経路の最終ステップであるグリシン側鎖の *N*-ホルムイミドイル化を触媒する酵素 Orf 1 の機能解析を行った。*orf 1* 遺伝子の破壊株がグリシノスリシンを生産したため、本化合物が Orf 1 の基質と考えられた。また、本酵素はフラビン酵素であるグリシン酸化酵素に相同性を示したことから、グリシンとグリシノスリシンを基質に Orf 1 組換え酵素による酵素反応を行った。その結果、BD-12 の生産を検出するとともに、反応中間体と推定される化合物も同定した。さらに詳細な酵素学的諸性質や反応速度論的解析を行うことで、Orf 1 の有機化学的にユニークな反応機構について新たな知見を得た。