

# 非リボソームペプチド合成に用いられる 非タンパク質新生アミノ酸の生合成

東京大学大学院農学生命科学研究科 勝山 陽平

## 【略歴】

2007年4月 日本学術振興会特別研究員 DC1 (東京大学)  
2010年3月 東京大学大学院農学生命科学研究科 博士課程 修了 博士(農学)取得  
2010年4月 Postdoctoral research fellow, Department of Pharmaceutical Biotechnology,  
Saarland University  
2010年6月 Humboldt Research Fellow, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Saarland University  
2012年4月 東京大学大学院農学生命科学研究科 講師

## はじめに

非リボソームペプチドはリボソームを用いず、非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) により生合成されるペプチドである。抗生物質であるバンコマイシンやダプトマイシン、免疫抑制剤であるシクロスポリン、シデロフォアであるエンテロバクチンやビブリオバクチンに代表されるように、その多くは重要な生理活性を持つ。非リボソームペプチドの生合成はリボソームによるペプチド合成と異なり、通常タンパク質合成に用いられる 20 種のアミノ酸のみならず数百種類のアミノ酸が用いられる。この性質は非リボソームペプチドが多様な生理活性を持つために極めて重要である。これらのアミノ酸の多くが特異な構造を持ちその生合成には興味深い活性をもつ酵素群が数多く関わっている。

近年、天然物をより有効活用するための技術として、コンビナトリアル生合成が注目されている。コンビナトリアル生合成とは遺伝子組換えを用いて生合成経路を改変し、天然物の類縁体を生産する技術である。天然物は構造や活性の多様さにおいて有機合成ライブラリーよりも優れており、重要な医薬品資源として認識されている一方で誘導體化が難しいという欠点を持つ。この欠点はコンビナトリアル生合成により解決出来る可能性が有る。また、この技術がさらに発展すれば、様々な構造の非リボソームペプチドを自在に微生物に作らせることが可能になると期待される。これを実現するためには、酵素ライブラリーの強化と各酵素の詳細な機能解析が必要である。そこで我々の研究室では生合成経路が未同定な非タンパク質新生アミノ酸を持つ非リボソームペプチド (図) に着目し、その生合成経路明らかにするとともに、それらに関わる酵素の詳細な機能解析を行っている。

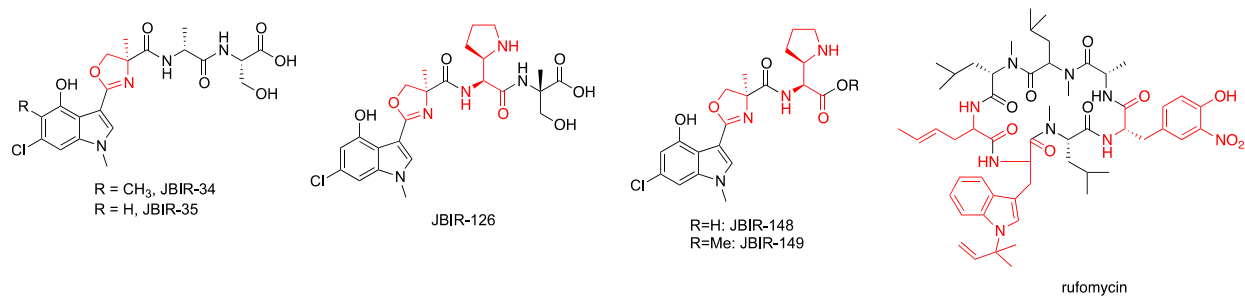


図 研究対象としている非リボソームペプチド。非タンパク質新生アミノ酸を赤線で示した。

### JBIR-34, -35 の生合成経路の解析

JBIR-34, -35 (図) は *Streptomyces* sp. Sp080513GE-23 の生産する非リボソームペプチドである。このペプチドは 4 位にメチル基を持つオキサゾリン環を持つ。この構造の生合成は過去に報告されていなかった。この化合物の生合成遺伝子クラスターを取得し、解析を行った結果、この構造は  $\alpha$ -methyl-L-serine より生合成されることが明らかとなった。また、この非タンパク質性アミノ酸は FmoH が D-alanine をヒドロキシメチル化することで生合成されることが明らかとなった。次に 4 つの NRPS、FmoA2, A3, A4, A5 の組換えタンパク質を調製し、用いることで JBIR-34, -35 の生合成を試験管内で再構成することに成功した。

### JBIR-126, -148, -149 の生合成経路の解析

JBIR-126, -148, -149 (図) は JBIR-34, -35 と部分的に類似した構造を持つが 2-amino-2-(pyrrolidin-2-yl)acetic acid をその構造中に含む点で異なる。ピロリジン環を持つ代表的なアミノ酸はプロリンであるが、側鎖にピロリジン環を持つアミノ酸の生合成経路はまだ知られていない。そこで、生産株のゲノム解析により生合成遺伝子クラスターを探索した。その結果、JBIR-34, -35 生合成遺伝子クラスターと類似した生合成遺伝子クラスターを発見した。この生合成遺伝子クラスター中には JBIR-34, -35 生合成遺伝子クラスターには存在しない機能未知の酵素が 3 つコードされており、これらが 2-amino-2-(pyrrolidin-2-yl)acetic acid の生合成を担っていることが示唆された。

### Rufomycin の生合成経路の解析

Rufomycin (図) は 7 つのアミノ酸からなる環状ペプチドであり、*trans*-2-crotylglycine、3-nitrotyrosine などの非タンパク質新生アミノ酸を持つ。これらのアミノ酸の生合成経路も過去に報告されていない。そこで、生産株のゲノム解析によりこれらの生合成遺伝子クラスターを探索した。その結果、候補となる生合成遺伝子クラスターの発見に成功した。得られた配列のバイオインフォマティクスを利用した解析から、*trans*-2-crotylglycine はポリケタイド合成酵素 (PKS) により生合成されることが示唆された。また、3-nitrotyrosine は一酸化窒素合成酵素と P450 が共同して tyrosine を直接ニトロ化することにより生合成されることが示唆された。

### 参考文献

- Izumikawa et al. (2015) *Tetrahedron Lett.* **56**, 5333-5336.  
Ju and Parales (2010) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **74**, 250-272.  
Sattely et al. (2008) *Nat. Prod. Rep.* **25**, 757-793.  
Sun et al. (2015) *Drug Des. Devel. Ther.* **9**, 823-833.  
Motohashi et al. (2010) *J. Nat. Prod.* **73**, 226-228.  
Muliandi et al. (2014) *Chem. Biol.* **21**, 923-934.  
Walsh et al. (2013) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **52**, 7098-7124.

### 謝辞

本研究は東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻醗酵学研究室で行われたものであり、同研究室で本研究に参画された先生方及び学生、共同研究して下さった産業総合研究所の新家一男上級主任研究員、沖縄科学技術大学院大学佐藤矩行教授をはじめとする多くの先生方に感謝を申し上げます。