

ポリケタイド化合物の分子多様性を生み出す生合成酵素の結晶構造解析 Structural analysis of enzymes involved in the biosyntheses of various polyketides

宮永 顕正^{*}、篠原 雄治、岩沢 翔平、工藤 史貴、江口 正

東京工業大学大学院理工学研究科、〒152-8551 東京都目黒区大岡山 2-12-1-E1-1
Akimasa Miyanaga^{*}, Yuji Shinohara, Shohei Iwasawa, Fumitaka Kudo and Tadashi Eguchi
Tokyo Institute of Technology, 2-12-1-E1-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo, 152-8551, Japan

1 はじめに

微生物が生産するポリケタイド化合物は多様な化学構造と生物活性を有している。その構造多様性の一因としてポリケタイド合成酵素 (PKS) が用いる開始基質や伸長鎖基質の多様性が挙げられる。開始基質や伸長鎖基質として一次代謝産物由来の低級脂肪酸が用いられる場合に加え、その生合成系に特化した独自の基質が利用される場合があり、ポリケタイド骨格の多様性を広げている。アシル基転移酵素 (AT) は目的の開始基質や伸長鎖基質を対応するアシルキャリアータンパク質 (ACP) に受け渡すために、アシル基を厳密に認識すると共に、ACP についても他の ACP と区別して認識していると考えられる。AT と ACP 間のタンパク質間相互作用はポリケタイド化合物の生合成において重要であるが、これまでに AT と ACP の複合体構造の報告例はなく、AT による ACP の認識機構は不明であった。

当研究グループは、放線菌 *Streptomyces halstedii* HC34 が生産するマクロラクタム抗生物質ビセニスタチンにおける特異アミノ酸開始ユニットの構築機構に注目し、研究を進めてきた。その過程で、AT である VinK が、単独で存在する ACP である VinL に結合したジペプチジル基を PKS 上の ACP ドメインへと受け渡す反応を触媒することを見いだした。本研究では、VinK のジペプチジル基認識機構と ACP 認識機構に関する知見を得るため、VinK の結晶構造を決定することを目的とした。

2 実験

まず、VinK の結晶化を行った。得られた結晶を用いて、KEK-PF の構造生物学ビームラインにおいて、回折測定実験を行った。位相決定には、セレノメチオニンラベルされた VinK 結晶を用いた。また、VinK-VinL 複合体の結晶構造を得るため、VinK と VinL とがクロスリンクされた複合体を調製し、結晶化を行った。得られた結晶を用いて、回折測定実験を行い、構造を解析した。

3 結果および考察

VinK の構造を分解能 1.8 Å にて決定した (図 1 左)。VinK はラージドメインとスモールドメインの二つのドメインから構成されており、他の AT と似た全

体構造を有していた。malonyl-CoA を基質とする AT である FabD と構造比較を行ったところ、FabD において基質のマロン酸部位を認識する Arg117 が、VinK では疎水的かつ小さなアミノ酸残基である Leu131 に置き換わっており、結果として VinK はジペプチジル基の認識に適した大きな基質結合ポケットを有していることが分かった。

次に、VinK と VinL との複合体構造を分解能 2.34 Å にて決定した (図 1 右)。その結果、VinK は主に 2 つの塩基性残基 Arg153 と Arg299、および 1 つの疎水性残基 Met206 により VinL を認識していることが明らかになった。これら 3 つのアミノ酸残基の変異体を作製したところ、それぞれの変異体において VinL との相互作用が弱くなったことから、実際にこの 3 つの残基が VinL とのタンパク質間相互作用に関わっていることが明らかになった。本複合体構造は、AT と ACP の複合体の初めての結晶構造であり、他のポリケタイド化合物生合成に関わる AT と ACP 間の相互作用を予測するためのモデル構造となり得ると考えられる。

本研究成果は *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 誌に掲載された [1]。

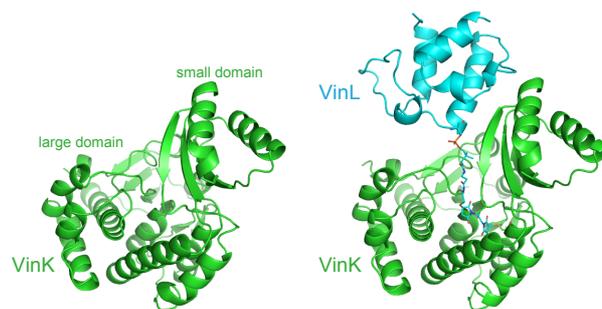


図 1 : VinK 単独の全体構造 (左) と VinK-VinL 複合体の全体構造 (右)

4 まとめ

VinK 単独の構造、及び VinK と VinL の複合体構造を決定することに成功し、VinK のジペプチジル基認識機構と ACP 認識機構を明らかにした。

謝辞

実験をサポートしてくださった PF スタッフの方々に感謝いたします。

参考文献

- [1] A. Miyanaga *et al.*, Structure-based analysis of the molecular interactions between acyltransferase and acyl carrier protein in vicenistatin biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **113**, 1802–1807 (2016).

成果

受賞

岩沢翔平

第5回 CSJ 化学フェスタ 2015 優秀ポスター発表賞
「マクロラクタム抗生物質ビセニスタチン生合成に関わるアシル基転移酵素 VinK の基質認識機構解析」

* miyanaga.a.aa@m.titech.ac.jp