

# アミノグリコシド抗生物質ブチロシン生合成酵素の構造解析 Structural analysis of butirosin biosynthetic enzymes

坂本葵<sup>1</sup>, 千菅太一<sup>1</sup>, 宮永顕正<sup>1,2,\*</sup>, 工藤史貴<sup>1</sup>, 江口正<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京工業大学理学院, 〒152-8551 東京都目黒区大岡山 2-12-1

<sup>2</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科, 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1  
Aoi SAKAMOTO<sup>1</sup>, Taichi CHISUGA<sup>1</sup>, Akimasa MIYANAGA<sup>1,2,\*</sup>, Fumitaka KUDO<sup>1</sup>  
and Tadashi EGUCHI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8551, Japan

<sup>2</sup>The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

## 1 はじめに

臨床医学上重要な抗生物質であるアミノグリコシド抗生物質の多くは、2-デオキシストレプトアミンをアグリコンとする擬似オリゴアミノ糖である。その生合成においては、共通中間体であるパロマミンを生成した後、それぞれの生合成経路に特徴的な修飾反応をうけ、多種多様なアミノグリコシド抗生物質が構築される。近年耐性菌の出現が問題となっているが、アミノグリコシド抗生物質の構造多様化に関わる生合成酵素の機能や構造を明らかにし、得られた知見を生合成工学に応用することによって、耐性菌に有効な非天然型アミノグリコシド化合物を創製できる可能性がある。

当研究グループでは、アミノグリコシド抗生物質ブチロシンの生合成研究を進めてきた。4'-デオキシブチロシンは、ブチロシンの4'位がデオキシ化された化合物であり、一部のブチロシン耐性菌にも抗菌活性を示すことが知られている。4'位水酸基の有無が抗菌活性の有無に寄与すると考えられ、4'-デオキシブチロシン生合成における4'位のデオキシ機構に興味を持たれた。遺伝子クラスターの解析や酵素反応解析などから、酸化還元酵素と相同性を示す BtrZ1 とヌクレオチド転移酵素と相同性を示す BtrZ2 が4'位のデオキシ化反応に関わると考えられた(図1)。そこで、本研究では、4'位のデオキシ化反応の機構に関する知見を得るため、BtrZ2 の結晶構造を決定することを目的とした。

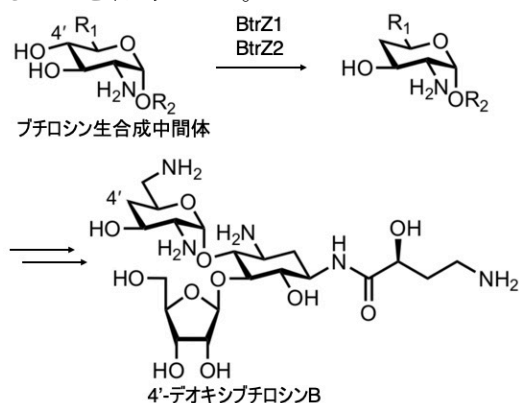


図1：デオキシブチロシンの生合成経路

## 2 実験

まず、BtrZ2 の組換えタンパク質を大腸菌にて異種発現させ、精製タンパク質を用いて結晶化を検討した。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、X 線回折測定実験を行った。また、BtrZ2 の結晶に基質アナログであるネアミンなどを浸透させ、複合体結晶を得たのち、同様に X 線回折測定実験を行った。これらの測定データについて、それぞれ分子置換法により位相を決定し、構造を解析した。

## 3 結果および考察

まず、BtrZ2 のリガンド非結合型の結晶構造を分解能 2.4 Å で決定した。BtrZ2 はホモ二量体で存在していた。

次に、BtrZ2 の基質認識機構に関する知見を得るため、ネアミンとの複合体構造を 2.35 Å で決定した。ネアミンは、BtrZ2 の活性部位において、多数の酸性アミノ酸残基と相互作用していた。これらの残基の変異体を作製したところ、いずれの変異体についても活性が大幅に低下したことから、これらの残基が基質認識に関わっていることが明らかになった。

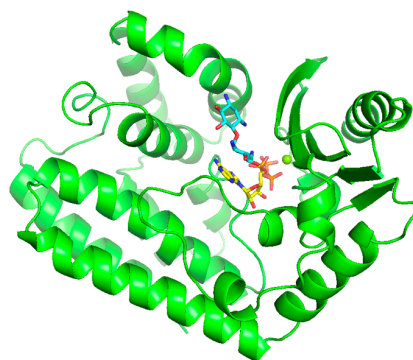


図2：BtrZ2 の結晶構造

## 4 まとめ

4'-デオキシブチロシン生合成において4'位のデオキシ化に関わる BtrZ2 の結晶構造解析を行った。

BtrZ2 と基質アナログとの複合体構造の決定に成功し、BtrZ2 の基質認識機構に関わる知見を得た。

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。

\* amiyana@[g.ecc.u-tokyo.ac.jp](mailto:g.ecc.u-tokyo.ac.jp)