

生命と化学

2020 年度採択研究者

|                  |
|------------------|
| 2020 年度<br>年次報告書 |
|------------------|

松田 研一

北海道大学 大学院薬学研究院  
助教

短鎖環状ペプチドの酵素・生物合成

## § 1. 研究成果の概要

本研究課題は、有機合成では制御の難しい短鎖ペプチドの環状化を効率よく触媒する環化酵素ファミリーPBP-type TE の機能比較解析を通じ、基質選択性の発現メカニズムを解明し、改良酵素を創成することを目指す。

今年度は、PBP-type TE 遺伝子をデータベースより収集し、3 種類の酵素(ホモログ A、ホモログ B、PenA)について可溶性組換えタンパク質を取得した。機能解析の結果、これらはいずれもこれまで詳細な機能解析がなされた SurE とは明確に異なる基質選択性を示した。ホモログ A、B は SurE が全く環化しないモデル基質に対して環化活性を示した。特にホモログ A は環化反応だけでなく二量体化反応を触媒し、さらに基質を適切に設計することでペプチドライゲーション反応を選択的に触媒した。この性質の差異をタンパク質構造の観点から考察するため、一次配列を比較したところ、基質の結合に伴って活性中心に接近するループ構造が、ホモログ A において大きく欠損していることが判明した。

PenA は非リボソーム型環状ペプチド類の生合成を担う。組換え PenA の性質を SurE と比較した結果、PenA は SurE と同様に、末端残基に対する厳密な立体選択性、および基質配列内部のアミノ酸に対する寛容な選択性を示した。一方、これらの酵素は基質の基質サイズに対して異なる選択性を示し、テトラペプチドを基質とした反応において、SurE は単量環化体及び二量環化体を与えたのに対し、PenA は二量環化体を生じず、単量環化体を選択的に与えた。PenA のモデル構造を SurE のアポ体の構造と比較したところ、C 末端ドメインのループが 10 残基ほど伸長し、基質ポケットの入り口に覆いかぶさるように位置することが示唆された。このことから本ループ構造が PenA に短鎖ペプチド選択性を付与する重要な構造モチーフである可能性が示唆された。

### 【代表的な原著論文情報】

1. Matsuda, K., Fujita, K., Wakimoto, T. PenA, a penicillin-binding protein-type thioesterase specialized for small peptide cyclization. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, kuab023, 2021. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuab023>