

生命と化学

2021 年度採択研究代表者

2022 年度

年次報告書

谷藤 涼

東京大学 大学院理学系研究科

助教

化学-酵素ハイブリッド合成中分子群による転写制御

## 研究成果の概要

本研究は設計した中分子リガンド群の化学-酵素ハイブリッド合成と、本分子群を用いた核酸-タンパク質間相互作用の制御を目的としている。二年度目である本年度は、1) 類縁酵素群の検討と酵素変換の最適化による複雑天然物骨格の効率的合成、2) 酸化酵素を活用した位置選択的酸化反応、さらに 3) 既知の転写因子リガンドを導入した中分子の半合成を行った。

1) について、これまでに使用していた骨格構築酵素 2 種に加え、類縁酵素 2 種の活用を検討した。現状酵素活性の確認には至っていないが、大量発現系の構築に成功している。基質構造の検討も進め、核酸-タンパク質間相互作用を制御する中分子リガンドの合成に活用可能な生合成酵素群を拡充する予定である。2) について、前述の骨格構築酵素群によって生成する五環性化合物は擬対照構造を取り、2 つのフェノール環を有する。設計した中分子リガンド群の化学-酵素ハイブリッド合成には、一方のみを位置選択的にキノンへと酸化し、非対称化する必要があった。これを達成するため、後期修飾酵素の適用を検討した。類縁酵素群 3 種の発現を検討し、2 種については可溶化、精製に成功した。現状、活性を確認できたのは 1 種のみあるが、目的のモノキノンの生成が確認できている。連続酵素変換の効率向上を進め、キノンを足掛かりとしたマクロ環の構築を目指す。3) について、半合成したマクロ環状中分子へ、i) 転写因子の既知リガンドと ii) 光親和性標識基の両方を導入した新規中分子を設計し、合成を進めた。分子量 1200 を超える設計中分子の半合成に成功している。大腸菌発現系を用いて標的となる転写因子の大量発現・精製法も確立し、目的のタンパク質も調製した。現在、*in vitro* での核酸-中分子-転写因子三成分複合体の形成と捕捉を検討している。タンパク質との共有結合体、さらには DNA 二重鎖とも結合を形成した三成分複合体の形成を確認次第、*in cell* での検討も進める。