



令和元年 12 月 23 日

結核に有効な抗生物質 D-サイクロセリンの生合成に関与する 酵素の立体構造と触媒機構の解明に成功

【本研究成果のポイント】

環状構造を持つ D-サイクロセリン (D-CS) は、肺への移行性が高いことと、既存の抗生物質に耐性を示す結核菌に有効であることから、結核の二次選択薬として使用されています。

今回の研究成果として、D-CS の生合成に関与する DcsG 酵素の立体構造決定に成功するとともに、その立体構造に基づいて、ATP 存在下で基質を環状化する酵素の触媒機構を明らかにすることができました。

本研究成果からは、以下の応用が考えられます。

- ① 環状構造を持つペプチドはエキソ型ペプチド分解酵素から保護されることから、DcsG は分解されにくい生理活性ペプチドの合成に使用できる可能性があります。
- ② DcsG の反応機構を応用し、蛍光剤をタンパク質に付加することが期待できます。

【概要】

ATP-grasp モチーフを持つ酵素は、通常、2つの基質をアミド結合で連結する反応を触媒しますが、DcsG は分子内でアミド結合を形成することが特徴です。今回、杉山研究グループの一員で、安田女子大学に移籍した的場康幸准教授が中心となり、DcsG の三次元構造を解析し、その触媒機構を原子レベルで解明しました。

本研究成果は 2019 年 12 月 3 日に「The FEBS Journal」オンライン版に掲載されました。

< 発表論文 >

論文タイトル

Cyclization mechanism catalyzed by an ATP - grasp enzyme essential for D-cycloserine biosynthesis

著者

的場康幸、宇田成利、工藤真子、杉山政則

掲載雑誌

The FEBS Journal 電子版のアクセス先は以下 URL

<https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/febs.15163>

【背景】

広島大学大学院医系科学研究科の杉山政則教授の研究グループは、以前、D-CS をつくる放線菌 *Streptomyces lavendulae* ATCC11924 から D-CS 生合成遺伝クラスターのクローニングに成功しました (*Antimicrobiol. Agents Chemother.* **54**, 1132-1139, 2010)。その後、D-CS 生合成遺伝子クラスター内に存在する *dcsG* 遺伝子のコードする産物 (DcsG) は、ATP-grasp モチーフを持つことから、ATP 依存的にアミド結合を形成する活性を示すとの作業仮説を立てました。その結果、DcsG が ATP 存在下で、O-ウレイド-D-セリン (D-OUS) をアミド結合で環状化して D-CS を合成することを発見したこと (*Antimicrob Agents Chemother.* **57**, 2603-2612, 2013) が、今回の研究の背景となっています。

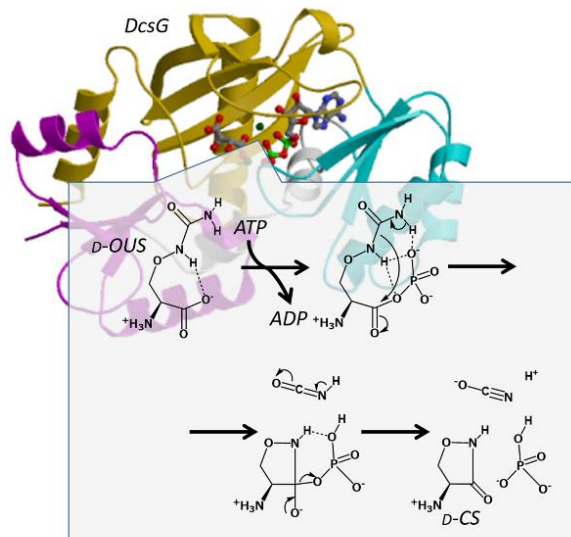
【研究成果の内容】

大腸菌を用いて合成したセレノメチオニン置換型 DcsG を精製しました。それを ADP 存在下で結晶化し、SPring-8 にて X 線回折強度を測定後、単波長異常分散法にて解析し、2.4 Å 分解能で結晶構造を解析しました。その結果、DcsG は、同じく ATP- grasp モチーフをもつ D-Ala-D-Ala リガーゼやグルタチオンシンテターゼのクローズド型と類似した構造をとっており、その三次元構造情報から、DcsG の活性ポケットは小さく、1 分子を環状化するのに適していると示唆されました。また、*O*-ウレイド-D-セリンを D-CS へ変換する際に、シアン酸が生じていることを新たに見出すとともに、DcsG の反応機構を詳細に説明することができました。

【今後の展開】

環状構造を持つペプチドはエキソ型ペプチド分解酵素から保護されることから、DcsG は分解されにくい生理活性ペプチドを合成する目的で使用できる可能性があります。さらに、DcsG の反応機構を応用し、蛍光剤をタンパク質に付加することで、プロテオーム解析に用いたり、生理現象のモニタリングなどに使われる診断薬を開発することを考えています。

【参考資料】



【お問い合わせ先】

大学院医系科学研究科 未病・予防医学共同研究講座教授 杉山 政則

Tel : 082-257-5280 FAX : 082-257-5284

E-mail : sugi@hiroshima-u.ac.jp

発信枚数 : A4版 2枚 (本票含む)