

26PE-am009

ビタミンB12の嫌氣的生合成経路における新規生合成中間体 Cobalt-precorrin 5A および 5B の遺伝子工学的合成と構造決定

○梶原 康宏¹, Patricio Santander², Charles Roessner², Lisa Perez²,
伊田 喜光¹, Alastair Scott¹(横浜薬大, ²テキサス A&M 大)

【目的】ビタミンB₁₂ (シアノコバラミン) には、好氣的生合成経路と嫌氣的生合成経路の2つの異なる生合成経路が存在する。前者は既にほぼ全ての生合成中間体の構造決定と酵素の機能解明がなされたが、後者はいくつかの生合成中間体の構造決定と酵素の機能が未解明のまま残されてきた。今回、筆者らは長い間未知であった生合成中間体 cobalt-precorrin 5A, および 5B の単離・構造決定、並びにそれらの合成酵素の機能解明を行った。

【方法】嫌氣性菌の *Salmonella enterica* が cobrinic acid を合成するために必須とする2種の酵素 (CbiF と CbiG) を遺伝子組み換え技術によって *Escherichia coli* で過剰に発現させた。一方、位置選択的に安定同位体 ¹³C で標識した基質 (cobalt-precorrin 4) を3種類調製し、それぞれと SAM, glycine cobalt (III) salt 及び前出の酵素を共に用いてインキュベートした。次いでメチルエステル化を行い、コバルトイオンのアキシャルリガンドとしてシアノ基を導入後、アルゴン気流下で精製した。また同様の方法で CbiF だけを用いた実験も行った。

【結果】CbiF だけを用いた実験の生成物は、cobalt-precorrin 4 の C-11 位にメチル基が導入されたものであり、CbiF と CbiG を用いた実験の生成物は、さらに cobalt-precorrin 4 の A 環上のδ-ラクトンが加水分解されて C-20 位とそれに隣接するメチル基が脱離したものであった。ビタミンB₁₂ の生合成中間体の命名法に従い、前者を cobalt-precorrin 5A, 後者を cobalt-precorrin 5B のメチルエステル体と命名した。本研究より、ビタミンB₁₂ の嫌氣的生合成経路において、環縮合を起こした cobalt-precorrin 4 から cobyrinic acid までの間の生合成中間体が初めて明らかにされ、それと同時に酵素 CbiF と CbiG の機能を明確にすることができた。