

27G-pm02

投げ縄構造を有する抗結核ペプチド lariatin の生合成メカニズムに関する研究
○松濱 万貴¹, 猪腰 淳嗣¹, 大村 智², 供田 洋¹ (¹北里大院薬, ²北里大生命研)

【目的】 Lariatin A および B は、放線菌 *Rhodococcus jostii* K01-B0171 株が生産する抗結核ペプチドである。Lariatin は、N 末側で ¹Gly と ⁸Glu がアミド結合して分子内環状構造を形成し、C 末側の尾部鎖がこの環状部分をくぐりぬけた「投げ縄構造」を有している¹⁾。本研究では、生合成メカニズムの解明のため、lariatin 生合成遺伝子のクローニングを試みた。

【方法・結果】 *Rhodococcus* 属用の遺伝子破壊ベクター pTNR (産業技術総合研究所・田村博士より分与) を lariatin 生産菌に導入した。得られた形質転換体 1520 株から、*Mycobacterium smegmatis* を検定菌とした重層法およびペーパードISK法による阻止円の消失を指標として、7 株の lariatin 生合成閉鎖株を選択した。被破壊部位近傍の DNA を AP-PCR 法により増幅し、塩基配列を解析した結果、lariatin A のアミノ酸配列 (GSQLVYREWVGHHSNVIKP) を含む DNA 断片が得られた。この配列をプローブとして、lariatin 生産菌の DNA ライブラリーをスクリーニングした結果、2 株のクローンが得られ、lariatin A 構造遺伝子の周辺約 6 kb の塩基配列を決定した。その結果、約 4.5 kb の領域に、lariatin 生合成に関与する 5 つの ORF (*lar A*, *lar B*, *lar C*, *lar D*, *lar E*) が遺伝子クラスターを形成しオペロンとして存在していると推定された。さらに、lariatin 前駆体である Lar A が、切断、環化され菌体外へ排出されるメカニズムで投げ縄構造が形成されると予想された。

1) M. Iwatsuki *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 7486-7491 (2006)