

投げ縄構造を有する抗結核ペプチド lariat A の標的分子の同定

○山下 皓平¹, 猪腰 淳嗣¹, 小山 信裕¹, 大村 智², 供田 洋¹ (¹北里大薬, ²北里大生命研)

【背景】 Lariat A は、抗結核菌活性物質のスクリーニングの過程で *Rhodococcus jostii* K01-B0171 株が生産するペプチド系の抗生物質として見出され、*Mycobacterium* 属にのみ選択的に抗菌活性を示す。Lariat A はアミノ酸の数によって A 及び B が知られており (A: 18 アミノ酸、B: 20 アミノ酸)、分子内に「環状+鎖状構造」を有する。また、環状構造の輪の中を鎖状部分が通りぬける「投げ縄構造」と呼ばれるユニークな構造を持っている。これまでに、投げ縄構造を有する天然由来の化合物がいくつか報告されているが、*Mycobacterium* 属にのみ選択的に抗菌活性を示す化合物の報告がないことから、その作用機序に興味を持たれた。そこで、今回 lariat A の標的分子の探索を試みた。

【方法】 Lariat A の C 末端に Amine-PEO₂-biotin を縮合反応にて結合させ biotinyl-lariat A を作製した。これを用いて *M. smegmatis* mc²155 株菌体内の lariat A に結合するタンパク質を探索した。同定されたタンパク質を大腸菌で発現させ、ニッケルカラムにて精製し、lariat A との結合を調べた。

【結果】 Biotinyl-lariat A を用いた結合タンパク質の探索から lariat A が分子量 26.3kDa の S30AE family protein (以後 Sfp と略す) と結合することが分かった。さらに、大腸菌で発現させた Sfp を用いて lariat A との相互作用を調べたところ、lariat A は Sfp と結合することが明らかとなった。また BLAST 検索から、Sfp のアミノ酸配列と高い相同性を示すタンパク質は *Mycobacterium* 属およびその近縁種に見られることが分かった。このことから、これらの菌種に存在する Sfp またはこれと類似したアミノ酸配列をもつタンパク質が lariat A の抗菌スペクトルの特異性に関係していると考えられる。