

28AB-pm092

Rosamicin 生合成におけるカルボキシル基形成に関与する多機能型 P450 酵素 RosC の機能解析

○飯坂 洋平¹, 先崎 勇貴¹, 福本 敦¹, 加藤 文男¹, 安齊 洋次郎¹ (¹東邦大薬)

【目的】マクロライド抗生物質生合成において、P450 酵素による酸化修飾は抗生物質の生物活性に大きな影響を与える。*Mirocmonospora rosaria* が生産する 16 員環マクロライド抗生物質 rosamicin の C-20 位のホルミル基は P450 酵素 RosC が触媒する水酸化と脱水素の 2 段階の酸化反応により形成されることが明らかとなっている。また、*M. rosaria* の培養物から 20-carboxyrosamicin の生産が確認されていることから、RosC は rosamicin のホルミル基をカルボキシル基に変換する反応にも関与すると推定されている。本研究では、RosC のホルミル基からカルボキシル基への変換能を確認し、マクロライド系抗生物質の生物活性に重要な影響を与えるカルボキシル基構造の形成機構について検討した。

【方法】P450 酵素と *Pseudomonas* redoxpartners である CamAB を共発現させた *E. coli* BL21 (DE3) を用いて、rosamicin を基質とした生物変換試験を行った。変換反応液のクロロホルム抽出液を HPLC 及び LC-MS で解析した。

【結果及び考察】RosC と rosamicin の反応液より、rosamicin よりも分子量が 16 大きい 20-carboxyrosamicin と推定される化合物が検出された。このことから、RosC は 3 段階の酸化反応を触媒する多機能型 P450 酵素であることが明らかとなった。Rosamicin と同じくホルミル基を有する 16 員環マクロライド抗生物質 tylosin の P450 酵素 TylI を用いた試験においても、同様の結果が得られた。現在、生物変換により rosamicin を大量に変換し、分子量が 16 付加した化合物の単離・精製を検討しており、NMR を用いた構造解析を行う。また、得られた化合物の抗菌活性を評価し、RosC の酸化修飾と生物活性の関連性を検証する。