

# 22PO-am061

## シトクロム P450 酵素 RosC が触媒する多段階酸化反応の人為的制御

○飯坂 洋平<sup>1</sup>, 栗田 実紗<sup>1</sup>, 佐野 李帆<sup>1</sup>, 渡邊 有沙<sup>1</sup>, 福本 敦<sup>1</sup>, 安齊 洋次郎<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東邦大薬)

【目的】多段階酸化反応を触媒するシトクロム P450 酵素 (P450) は天然化合物の構造や生物活性の多様化を導くため、新たな有用化合物の創出への応用が期待される。このような P450 を有効に利用するには、多段階酸化反応を人為的に制御することが重要な課題となっている。16 員環マクロライド抗生物質 rosamicin の生合成に関与する P450 RosC はラクトン環 C-20 位のヒドロキシ基とホルミル基、カルボキシ基を形成する 3 段階の酸化反応を触媒する。これまでに RosC ランダム変異体をスクリーニングし、1 段階目の酸化反応のみを触媒する RosC 変異体 RM30 を取得している。この変異体はアミノ酸置換が 5 箇所生じていた。本研究では各アミノ酸変異体の触媒活性を評価し、多段階酸化反応の制御について検討した。

【方法】部位特異的変異導入により作製した RosC 変異体と *Pseudomonas* redoxpartners である CamAB を共発現させた *E. coli* BL21 (DE3) を用いて、生物変換試験により各アミノ酸変異体の rosamicin 類に対する変換効率を比較した。

【結果・考察】RM30 のアミノ酸変異 (P107S、L176Q、S254N、V277A、I319N) のうち、P107S、L176Q、I319N は変換効率の低下は見られたが、2 段階目以降の触媒能の欠失は認められなかった。そこで、二重変異体を評価した結果、P107S+L176Q、L176Q+V277A、L176Q+I319N 変異体は 1 段階目の酸化反応のみを触媒した。また、P107S+V277A、P107S+I319N 変異体も 2 段階目以降の変換効率の低下が見られたが、C-20 位にホルミル基を有する rosamicin を基質とした場合はカルボキシ基への変換効率が野生型と同程度であった。これらの結果より、基質との結合に関連があるとされる FG ループ領域の L176Q 変異が RosC の 1 段階目の酸化反応の制御に大きく関与すると考えられた。