

糸状菌の PKS-NRPS 融合タンパク質を組み合わせる

本山高幸

糸状菌のポリケチド合成酵素 (PKS) -非リボソームペプチド合成酵素 (NRPS) 融合タンパク質が生合成する化合物は生理活性物質の割合が高く、生化学や農業等において重要な天然物を生合成する。PKS-NRPS ハイブリッド産物は糸状菌から単離される最も一般的な生理活性物質である。最初に解析された PKS-NRPS ハイブリッド酵素はフザリン C 生合成酵素であり、その後多くの類似酵素遺伝子が単離されてきた。糸状菌の PKS-NRPS ハイブリッド酵素はお互いに非常によく似ており進化的に単系統であるが、生産される化合物は非常に多様性に富んでいる。そこで、異なる PKS-NRPS ハイブリッド酵素同士を組み合わせ、新たな化合物を創製しようとする試みがされてきたが、余りうまくいっていない。本紹介論文は、数少ない成功例となるとともに、このような研究を行う上での有益な情報を含む。

紹介論文

Combinatorialization of fungal polyketide synthase-peptide synthetase hybrid proteins,
Thomas B. Kakule, Zhenjian Lin, and Eric W. Schmidt*, *J. Am. Chem. Soc.*, **136**, 17882-90 (2014).
(University of Utah, United States)

要旨

糸状菌 PKS の生合成のプログラムは非常に複雑で、単純なドメイン構造から複雑な産物が生じる。PKS の中には更に複雑なものが見出されている。すなわち PKS と NRPS が融合したものであり、ポリケチドにアミノ酸が融合したものを生合成する。我々は、正しいポリケチド-ペプチド融合産物の形成を可能とするモジュール間のコミュニケーションを理解することを目指した。そのために、5 種類の化学的に高度に異なる糸状菌天然物をつくる遺伝子を融合させ、34 種のモジュール交換を含む 57 種の融合タンパク質をつくった。遺伝子融合は、ACP (acyl carrier protein)、C (condensation)、KR (ketoreductase) ドメインにより仲介される PKS 及び NRPS モジュールの関係と互換性を試すという目的をもって行われた。作製した融合遺伝子は高効率の発現プラットフォームで解析され、6 種類の新規化合物と 4 種の既知化合物が得られた。新規化合物をつくった融合タンパク質の中には、高度に異なる産物をつくる PKS-NRPS の間のモジュール交換の最初の成功例が含まれる。我々の結果は、C ドメインの選択性が高いことを示す。更に、高度に還元された PKS (hr-PKS) のなかでは、類似のメンバーの ACP が機能することを発見した。また、ロバスタチン生合成における Diels Alder 反応前の中間体を初めて取得することに成功し、標準的な糸状菌の生合成反応に光を当てた。これらの実験結果は糸状菌における hr-PKS と PKS-NRPS の産物の操作を成功させるための基盤となる。