

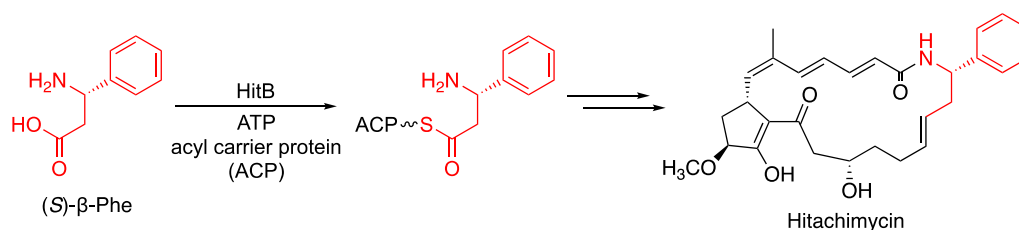
マクロラクタム抗生物質ヒタチマイシン生合成におけるアデニル化酵素 HitB の基質特異性の改変

(東工大理¹⁾) ○王 大威¹・千菅 太一¹・宮永 顕正¹・工藤 史貴¹・江口 正¹
 Engineering of Adenylation Enzyme HitB in the Biosynthesis of Macrolactam Antibiotic Hitachimycin (¹*Department of Chemistry, Tokyo Institute of Technology*) ○Dawei Wang,¹ Taichi Chisuga,¹ Akimasa Miyanaga,¹ Fumitaka Kudo,¹ Tadashi Eguchi¹

Hitachimycin is a macrolactam antibiotic with (*S*)- β -phenylalanine ((*S*)- β -Phe) at the starter position of the polyketide backbone. Previously, we have inactivated the phenylalanine aminomutase gene that is responsible for the formation of (*S*)- β -Phe and supplemented some (*S*)- β -Phe analogs into the mutant strain to produce hitachimycin analogs.¹⁾ However, because of the strict substrate specificity of the adenylation enzyme HitB, which is responsible for the selective recognition of (*S*)- β -Phe analogs and introduces those into the pathway, only a limited number of hitachimycin analogs have been produced. In this study, in order to modify the substrate specificity of HitB, we performed site-directed mutational analysis of HitB using structural information. As a result, the substrate specificity of some of the HitB mutants was changed successfully. Furthermore, the substrate recognition mechanism of the HitB mutants was elucidated by the crystal structural analysis.

Keywords : Hitachimycin; Macrolactam Antibiotic; Adenylation Enzyme; Substrate Specificity; Substrate Recognition Mechanism

ヒタチマイシンは、(*S*)- β -フェニルアラニン((*S*)- β -Phe)をポリケチド骨格のスターター部位に有するマクロラクタム抗生物質である。当研究室では、(*S*)- β -Phe 生成に関わるフェニルアラニンアミノムターゼ遺伝子を破壊した変異株に(*S*)- β -Phe 類縁体を投与することによって、幾つかのヒタチマイシン類縁体の生産に成功している¹⁾。しかしながら、(*S*)- β -Phe 類縁体を認識して生合成経路に取り込むアデニル化酵素 HitB の比較的高い基質特異性有するために、生産できるヒタチマイシン類縁体の種類が制限されていた。そこで本研究では、HitB の基質特異性を改変することを目指し、HitB の構造情報に基づいて部位特異的変異解析を行った。その結果、幾つかの HitB 変異体の基質特異性が改変されたことが分かった。また、それら HitB 変異体と反応中間体ミミックの複合体結晶構造解析により、HitB 変異体の基質認識機構を明らかにした。



1) Mutational biosynthesis of hitachimycin analogs controlled by the β -amino acid-selective adenylation enzyme HitB. F. Kudo et al., *ACS Chem. Biol.* **2021**, *16*, 539.