

マクロラクタム抗生物質生合成におけるアデニル化酵素とアシルキャリアタンパク質間の相互作用解析

(東京工業大学理学院) ○永田 健司・栗原 将平・宮永 顕正・工藤 史貴・江口 正
Investigation of interaction between adenylation enzyme and acyl carrier protein in the biosynthesis of macrolactam antibiotic (*Graduate school of Science, Tokyo Institute of Technology*) ○Kenji Nagata, Shohei Kurihara, Akimasa Miyanaga, Fumitaka Kudo, Tadashi Eguchi

In the biosynthesis of macrolactam antibiotic hitachimycin, the adenylation enzyme HitB activates (*S*)- β -phenylalanine and delivers it to the acyl carrier protein (ACP) HitD. HitB is supposed to selectively recognize HitD among many ACPs in vivo. However, the detailed mechanism remains unclear. In this study, we attempted to determine the structure of HitB-HitD complex to visualize the protein-protein interaction between HitB and HitD. We used a bromoacetamide probe to prepare a cross-linked complex of HitB and HitD and succeeded in the structural determination of HitB-HitD complex, allowing the elucidation of the mechanism of HitD recognition by HitB.

Keywords : biosynthesis; macrolactam antibiotics; protein-protein interaction; cross-linking reaction; adenylation enzyme

マクロラクタム抗生物質ヒタチマイシンの生合成において、アデニル化酵素 HitB は基質の(*S*)- β -フェニルアラニンを活性化し、アシルキャリアタンパク質 HitD に受け渡す反応を触媒する。HitB は生体内に複数存在するキャリアタンパク質の中で HitD のみを選択的に認識すると考えられているが、その機構の詳細は明らかになっていない。HitB と HitD の間に存在するタンパク質間相互作用の詳細を解明するためには複合体の構造解析が必要不可欠である。しかし、HitB と HitD の複合体の形成は一時的なものであり結晶化が難しいと考えられる。そこで本研究では、当研究室で以前に開発した合成プローブを用いてクロスリンク反応を行うことで、共有結合でつながれた安定な複合体の形成および得られたクロスリンク複合体の結晶化を目指した。

その結果、ブromoアセトアミドプローブを用いて調製した HitB と HitD のクロスリンク複合体の結晶化に成功し、HitB と HitD の複合体構造を決定することができた。結晶構造と変異体解析をもとに HitB による HitD の認識機構を明らかにすることができた。

