

## 1-アミノ-2-メチルシクロプロパンカルボン酸合成におけるメチル基転移酵素の機能解析

(東工大理<sup>1</sup>・福井県大生物資源<sup>2</sup>)○湊 敦志<sup>1</sup>・佐藤 秀亮<sup>1</sup>・丸山 千登勢<sup>2</sup>・濱野 吉十<sup>2</sup>・工藤 史貴<sup>1</sup>・江口 正<sup>1</sup>

Functional Analysis of a Methyltransferase in the Biosynthesis of 1-Amino-2-methylcyclopropanecarboxylic Acid (Graduate School of Science, Tokyo Institute of Technology<sup>1</sup>, Department of Bioscience, Fukui Prefectural University<sup>2</sup>)○Atushi Minato<sup>1</sup>, Shusuke Sato<sup>1</sup>, Chitose Marutama<sup>2</sup>, Yoshimitsu Hamano<sup>2</sup>, Fumitaka Kudo<sup>1</sup>, Tadashi Eguchi<sup>1</sup>

The cyclic peptide natural product Q6402A has the 1-amino-2-methylcyclopropanecarboxylic acid (Me-ACC) moiety in the structure. It has been reported that Me-ACC is biosynthesized from *S*-adenosyl-L-methionine (SAM) by the radical SAM C-methyltransferase Orf29 and the PLP-dependent ACC synthase Orf30 in a stepwise manner. Although the absolute configuration of Me-ACC has been clarified, the chemical structure of Orf29 reaction product has not been determined. In this study, we conducted functional analysis of Orf29 to elucidate the reaction mechanism including the stereochemistry. First, we synthesized [4,4-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>]SAM to examine which position of SAM is C-methylated. As a result of an enzymatic reaction with Orf29, it was found that Orf29 catalyzes C-methylation at the C4 of SAM. Next, (4*S*)-4-Me-SAM and (4*R*)-4-Me-SAM were synthesized as authentic samples. We now investigate the analytical conditions to determine the absolute configuration of the methylated product.

**Keywords :** *S*-Adenosyl-L-methionine; Radical *S*-adenosyl-L-methionine enzyme; C-Methylation; Biosynthesis; 1-Amino-2-methylcyclopropanecarboxylic acid

環状ペプチド天然物 Q6402A は 1-アミノ-2-メチルシクロプロパンカルボン酸部位を有している。この部分構造は、*S*-アデノシル-L-メチオニン (SAM) がラジカル SAM 酵素 Orf29 による C-メチル化を受けた後に PLP 依存の環化酵素 Orf30 によりシクロプロパン化されることにより生合成される。1-アミノ-2-メチルシクロプロパンカルボン酸の絶対立体配置が決定されている一方で、Orf29 の酵素反応生成物の化学構造については未解明であった。そこで、本研究では、メチル基転移反応を触媒するラジカル SAM 酵素 Orf29 の立体化学を含む反応機構に興味を持ち機能解析を行った。まず、SAM の 4 位を重水素化した基質を合成して Orf29 との酵素反応を行った結果、Orf29 は SAM の 4 位をメチル化することが明らかになった。次に、メチル化生成物の絶対立体配置の決定を目指し、(4*S*)-4-Me-SAM と (4*R*)-4-Me-SAM を標品として合成した。現在、立体構造解明に向けて、合成標品と酵素反応生成物の分離条件を検討している。

