91 プロテアソーム阻害剤の酵素を用いた効率的合成

北海道大学 大学院工学研究院 応用化学部門 応用生物化学研究室　　角田　毅

【背景・目的】ラクタシスチン（LA）は大村らによって 1991 年に *Streptomyces lactacystinicus* の培養液から Neuro 2a 細胞に対する神経突起伸長誘導剤として単離された化合物である。その後、LA がプロテアソームの特異的阻害活性を示すことや、N–アセチルシステイン（Ac–Cys）部の自発的脱離で生成する omuralide（OL）が活性本体として 20S プロテアソームと不可逆的に共有結合する阻害メカニズムが示されている。その活性の強さと特異性の高さからプロテアソーム関連の研究用試薬として世界中で広く使用されているが、LA や OL は高価であり、安価な供給が望まれている。また、他のプロテアソーム阻害剤である bortezomib は抗ガン剤として上市されており新規プロテアソーム阻害剤の発見・創生は創薬にも繋がる可能性がある。そこで、LA の生合成研究を行い、その仕組みを利用することで LA や OL の安価な供給や類縁体創出を試みることとした。このような背景のもと、まず LA 生合成の全容解明を目指した。

【結果・考察】LA の化学構造からその生合成にはポリケタイド合成酵素（PKS）と非リボソームペプチド合成酵素（NRPS）の関与が推定されたため、LA 生産菌 *S. lactacystinicus* のドラフトゲノム配列に両酵素の遺伝子を含む領域を探索したところ、PKS と NRPS を含む *lct* クラスターを見出した。続いて、この領域が LA の生合成に関与することを示すために、*lct* クラスターを異種発現ホストに導入したところ、LA の生産が観測できた。これより、*lct* クラスターが LA の生合成を担うことがわかった。さらに、クラスター中の組換え酵素を用いて *in vitro* での解析を行ったところ、以下に述べる LA 生合成を明らかにした。まず、新規ホルミル基転移酵素である LctF が CoA を直接ホルミル化し、生成したホルミル CoA からホルミル基が PKS へと結合する。さらに、PKS による鎖伸長によってメチルマロニルセミアルデヒド体（**1**）が合成される。他方、NRPS はβ–OH–Leu ではなく Leu を認識し自身に結合させ、**1** と NRPS に結合した Leu（もしくはβ–OH–Leu）が縮合することで中間体 **2** を生成する。最後に、**2** が環化酵素 LctC により環化され対応する環化産物が生成し、自発的な Ac–Cys の付加により LA が生成する。

本研究より、水酸化のタイミングを除く LA 生合成の全てのステップを明らかにし、特に、天然物における新たなホルミル CoA 生合成と PKS において、ホルミル CoA を開始基質とする初の例を示した。

【発表】

1) Tsunoda T, Furumura S, Yamazaki H, Maruyama C, Hamano Y, Ogasawara Y, Dairi T. Biosynthesis of lactacystin as a proteasome inhibitor. *Commun Chem.* **2025** Jan 13;8(1):9. PMID: 39806036 DOI: 10.1038/s42004-025-01406-4.
2) 2024 年 10 月 3rd Japanese-German Symposium on the Biosynthesis of Natural Products　口頭発表
3) 2024 年 7 月　The Chemistry and Biology of Natural Products Symposium XVII　口頭発表
4) 2024 年 6 月　1st Japan-Korea Actinomycetes Symposium　口頭発表　　など他数件

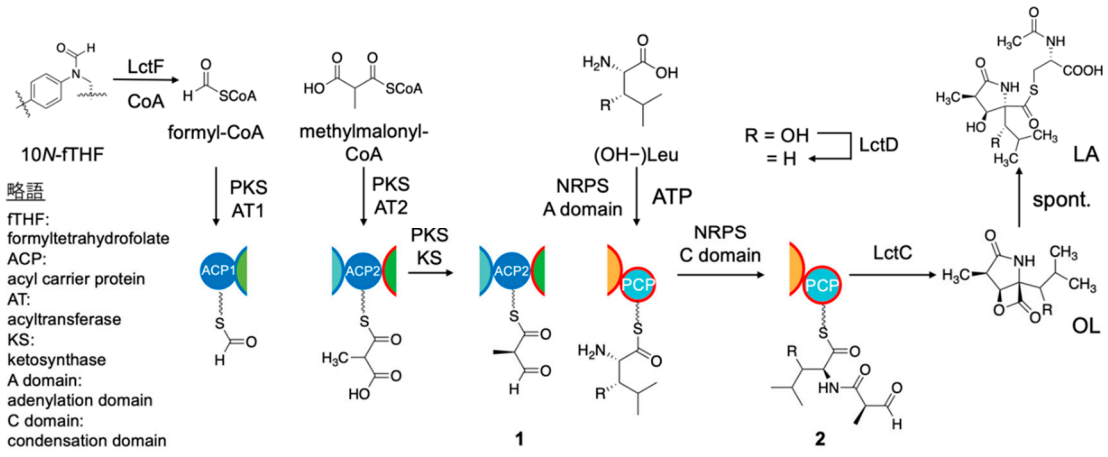


図　本研究で明らかになった LA の生合成経路