

**2P-221 エルゴチオネインは酸化ストレスから放線菌を守る**

中嶋 駿介, 佐藤 康治, 〇大利 徹  
(北大院・工・生機高)  
dairi@eng.hokudai.ac.jp

【目的】近年、微生物のゲノム解析が容易になるにつれ、個々の微生物が既知の代謝経路を有するか否か比較簡単に類推できるようになり、以前筆者らはメナキノンの新規合成経路を見出した。そこで、さらなる新規代謝経路を放線菌 *Streptomyces coelicolor* に探索した。その結果、*S. coelicolor* は抗酸化剤としてグルタチオンを用いないにもかかわらず、ゲノム上にグルタチオンの初発合成反応を触媒する  $\gamma$ -glutamate-cysteine ligase のオルソログ (SCO0910) が存在することに気付いた。そこで SCO0910 遺伝子、およびクラスターを成すと考えられる SCO0911, SCO0912, SCO0913 の機能解析を試みた。

【方法と結果】SCO0910 の組換え酵素を調製し、in vitro assay を行った結果、予想通り glutamate-cysteine ligase 活性を検出できた。また、SCO0911, SCO0912, SCO0913 が、*Mycobacterium smegmatis* で明らかにされたエルゴチオネイン (ERG) 合成遺伝子 (J. Am. Chem. Soc., 132:6632, 2010) のオルソログであることが判明した。放線菌や *Mycobacterium* 属細菌は、抗酸化物質として ERG に加え、マイコチオール (MSH) を用いることが知られている。そこで、どちらがより抗酸化作用があるのか調べるため、MSH 欠損株も構築し、各種酸化剤や抗生物質に対する感受性の違いを調べた。その結果、両欠損株は何れも野生株に対し過酸化水素や抗生物質に対し感受性が増大した。中でも ERG 欠損株が、より高い感受性を示したことから、*S. coelicolor* では、抗酸化剤として ERG が重要であると示唆された。

**Ergothioneine protects actinobacteria from oxidative stress**

Shunsuke Nakajima, Yasuharu Satoh, 〇Tohru Dairi  
(Div. Biotechnol. Macromol. Chem., Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ.)

**Key words** *Streptomyces*, antioxidant

**2P-223 抗生物質 Streptothricin(ST) 生合成中間体 Streptothrisamine の生合成研究**

〇丸山 千登勢<sup>1</sup>, 本山 賢人<sup>1</sup>, 泉川 美穂<sup>2</sup>, 小松 護<sup>3</sup>, 池田 治生<sup>3</sup>, 新家 一男<sup>4</sup>, 濱野 吉十<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>福井県大・生物資源, <sup>2</sup>JBIC, <sup>3</sup>北里大・北里生命研, <sup>4</sup>産総研)  
hamano@fpu.ac.jp

【目的】ST の生合成中間体である Streptothrisamine はその構造に streptolidine lactam と carbamoyl-D-gulosamine を有し、非リボソームペプチド合成酵素である ORF18 の遺伝子破壊株に生産蓄積される。Streptothrisamine は ST の生理活性に重要な構造であることから、その生合成には大変興味を持たれ、生合成酵素群を利用した新規 ST 類似化合物の創製が期待される。そこで本研究では ST 生合成遺伝子群より、その生合成に関わる生合成遺伝子の同定とその機能解析を行った。【方法・結果】carbamoyl-D-gulosamine 構造は、*N*-acetyl glucosamine を出発原料に生合成されることが知られていることから、推定される生合成ステップとして *N*-acetyl glucosamine の異性化、脱アセチル化、カルバモイル化、streptolidine lactam の付加が考えられる。そこで、これら生合成ステップに関わる生合成中間体が実際に存在するか検証したところ、ORF18 の遺伝子破壊株が streptothrisamine 以外にも、アセチル化された *N*-acetyl-streptothrisamine およびカルバモイル基が消失した decarbamoyl-*N*-acetyl-streptothrisamine の 2 つの生合成中間体を生産することが判明した。さらに、ST 生合成遺伝子群に carbamoyl transferase をコードする *orf17* 遺伝子と deacetylase をコードする *orf9* 遺伝子が存在することから、これら遺伝子が中間体の生合成に関与していることが強く示唆された。

**Studies on the biosynthesis of the ST biosynthetic intermediate, Streptothrisamine**

〇Chitose Maruyama<sup>1</sup>, Kento Motoyama<sup>1</sup>, Miho Izumikawa<sup>2</sup>, Mamoru Komatsu<sup>3</sup>, Haruo Ikeda<sup>3</sup>, Kazuo Shin-ya<sup>4</sup>, Yoshimitsu Hamano<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biosci., Fac. Biotechnol., Fukui Pref. Univ., <sup>2</sup>JBIC, <sup>3</sup>Kitasato Inst. Life Sci., Kitasato Univ., <sup>4</sup>AIST)

**Key words** antibiotics, peptide, biosynthesis

**2P-222 バクテリアにおける新規葉酸生合成関連遺伝子の同定**

〇佐藤 康治, 小林 大毅, 大利 徹  
(北大院・工・生機高)  
syasu@eng.hokudai.ac.jp

【目的】多種多様な生物のゲノム配列が決定されるにつれ、普遍的に存在していると考えられてきた一次代謝経路の遺伝子群が欠落した生物の存在が認知されるようになった。我々は詳細なゲノム解析により、葉酸の構成化合物である *p*-アミノ安息香酸 (pABA) の既知生合成関連遺伝子 (*pabABC* 遺伝子) を欠落したバクテリアを見出した。本研究では、既知 pABA 生合成遺伝子を持たず、pABA 原栄養性と考えられた *Lactobacillus fermentum* および *Nitrosomonas europaea* に新規 pABA 生合成遺伝子を探索した。

【方法・結果】大腸菌 *pabABC* 遺伝子欠損株を宿主としたショットガンクローニングを行い、最少培地での増殖能を指標にスクリーニングした。その結果、*L. fermentum* に関しては相補遺伝子を獲得できなかった。一方、*N. europaea* に関しては NE1434 遺伝子が pABA 要求性を相補した。また、NE1434 遺伝子を導入した *pabABC* 遺伝子欠損株を [U-<sup>13</sup>C]<sub>6</sub> glucose を単一炭素源として培養した後、培養液を LC-MS 解析した結果、<sup>13</sup>C を含む pABA のみが検出された。よって、本遺伝子は pABA 合成に関与することが証明された。

バイオインフォマティクス解析の結果、*Chlamydia trachomatis* の葉酸生合成関連遺伝子クラスターの下流に同じ向きで NE1434 の ortholog (CT610 遺伝子) を見出した。CT610 遺伝子も *pabABC* 遺伝子欠損株を相補したことから、葉酸生合成関連遺伝子の一遺伝子として機能していると考えられた。

以上、両菌株では pABA の生合成に新規な遺伝子が関与することを明らかにした。

参考文献: AEM 76 p7299 (2010), JBB 117 p178 (2014)

**New genes responsible for folate biosynthesis in bacteria**

〇Yasuharu Satoh, Daiki Kobayashi, Tohru Dairi  
(Div. Biotechnol. Macromol. Chem., Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ.)

**Key words** folate, *para*-aminobenzoate, *Nitrosomonas*

**2P-224 抗生物質 BD-12 生合成遺伝子の機能解析**

〇新倉 春香<sup>1</sup>, 丸山 千登勢<sup>1</sup>, 石川 淳<sup>2</sup>, 濱野 吉十<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>福井県大・生物資源, <sup>2</sup>国立感染症研)  
hamano@fpu.ac.jp

【目的】抗生物質 BD-12 はストレプトスリシン類抗生物質の 1 つであり、放線菌 *Streptomyces luteocolor* NBRC 13826 によって生産される。BD-12 およびストレプトスリシン (ST) は、両者とも streptolidine lactam, carbamoyl-D-gulosamine の共通した化学構造を有しているが、BD-12 は *N*-formimidoyl-glycine, ST は 1 残基の  $\beta$ -lysine あるいは 2~7 残基の  $\beta$ -lysine oligopeptide を有している。また我々は、ST の生合成において、 $\beta$ -lysine (あるいは  $\beta$ -lysine oligopeptide) のカルボキシル基と carbamoyl-D-gulosamine のアミノ基によるアミド形成は、非リボソーム型ペプチド合成酵素 (NRPS) である ORF 5 と ORF 18 によって触媒される一部に相同性を示す BD-12 生合成ステップにおいて、NRPS が *N*-formimidoyl-glycine と carbamoyl-D-gulosamine の縮合反応を触媒するのか、その可能性について検証した。【方法と結果】*S. luteocolor* NBRC 13826 のドラフトゲノム解析を行ったところ、ST の生合成遺伝子クラスターの一部に相同性を示す BD-12 生合成遺伝子群を同定した。しかし、興味深いことに、ORF 5 と ORF 18 に相同性を示す酵素遺伝子は存在していなかった。そこで、*S. luteocolor* NBRC 13826 のコスミドライブラリーから BD-12 生合成遺伝子群をクローニングし、異種放線菌 *Streptomyces lividans* に導入したところ、その導入株は glycine と carbamoyl-D-gulosamine が縮合した BD-12 生合成中間体を生産した。したがって、glycine と carbamoyl-D-gulosamine の縮合反応は、NRPS ではなく、全く異なる酵素によって触媒されることを明らかにした。

**Functional analysis of the antibiotic BD-12 biosynthetic genes**

〇Haruka Niikura<sup>1</sup>, Chitose Maruyama<sup>1</sup>, Jun Ishikawa<sup>2</sup>, Yoshimitsu Hamano<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. Biosci., Fac. Biotechnol., Fukui Pref. Univ., <sup>2</sup>Natl. Inst. Infect. Dis.)

**Key words** amino acid, peptide, biosynthesis, antibiotics