

【成果情報名】 放線菌が生産する青色色素化合物（アクチノロージン）の生合成に関与するモノオキシゲナーゼの解明

【要 約】 放線菌は抗生物質や色素物質等として知られる芳香族ポリケタイド化合物を生産する。青色色素化合物アクチノロージンの生合成遺伝子群について遺伝生化学的解析を行い、ポリケタイド骨格の修飾に関与するモノオキシゲナーゼ（酸化酵素）を同定した。本化合物の生合成には少なくとも3種類のモノオキシゲナーゼが関与しており、その内の一つは新規な構造の酵素であることを見いだした。

【部 署】 食品総合研究所・生物機能開発部・微生物機能研究室

【連絡先】 微生物機能研究室 029-838-8124 sdspage@nfri.affrc.go.jp

【成果区分】 参考

【キーワード】 二次代謝、芳香族ポリケタイド、生合成、モノオキシゲナーゼ

【背景・ねらい】

芳香族ポリケタイドは放線菌を始めとする微生物によって生産され、医薬品等として利用されているものも少なくない。ポリケタイド骨格の形成に関与する酵素については詳細な解析が行われているが、基本骨格の修飾に関与する酵素の解析はそれほど行われていない。しかしながら、それらの修飾酵素には様々な炭素骨格への酸素原子の付加、糖転移など化学的に興味深い反応を触媒するものも少なくなく、新規な物質変換プロセスへの応用が期待される。本課題では、放線菌の生産する芳香族ポリケタイド化合物アクチノロージンの生合成過程、とりわけポリケタイド骨格の修飾反応について解析することを目的とする。

【成果の内容・特徴】

1. アクチノロージンは22の遺伝子から成る生合成遺伝子クラスターによって合成される（図1）。本課題では、ポリケタイド骨格の化学修飾（テラリング）に関わる遺伝子のうち、最後期の酸化反応に関わる *actVA* および *actVB* 遺伝子群について解析を行った。
2. これまで、既知のモノオキシゲナーゼとの相同性および発現蛋白質を用いた生化学的解析（基質アナログを使用）から、6位の炭素の酸化反応は *ActVA6* 蛋白質によって触媒されると考えられていた。しかしながら、遺伝子破壊株の解析により本酵素がこの反応にあまり関与していないことが明らかとなった（図2および3）。
3. 各種遺伝子破壊株の代謝産物解析および発現蛋白質を用いた生化学的解析により、上記の酸化反応は主に *ActVA5* および *ActVB* の2種類の蛋白質から成るモノオキシゲナーゼによって触媒されることを明らかにした（図2および3）。
4. 遺伝学的な解析により、8位の酸化反応は *ActVA3* 蛋白質によって触媒されることが示された（図3）。本酵素は既知のモノオキシゲナーゼとは全く相同性を示さず新規な構造を有すると考えられる。

【成果の活用面・留意点】

1. ここで見いだされた3種類のモノオキシゲナーゼは有用芳香族化合物（ポリフェノールなど）の構造改変などに使用できる可能性がある。
2. *ActVA3* 蛋白質については発現蛋白質を用いての基質特異性等の検討が必要である。

[具体的データ]



図1 アクノロージン生合成遺伝子クラスターの構造

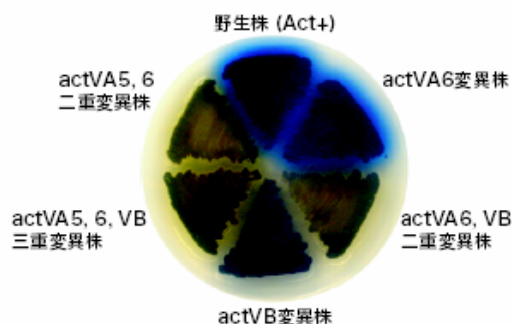


図2 各種 act 変異株におけるアクチノロージン（青色色素）生産性

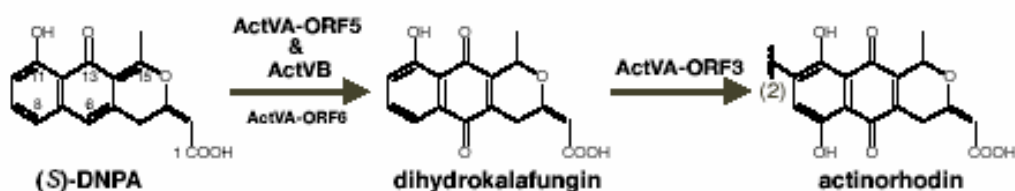


図3 アクチノロージンの後期生合成過程

[その他]

研究課題名：微生物分化制御機構に関する研究

予算区分：経常

研究期間：2003～2005年度（2004年度）

研究担当者：岡本晋、越智幸三

発表論文等：

- 1) Okamoto-Hosoya Y, Okamoto S, Ochi K: Development of antibiotic-overproducing strains by site-directed mutagenesis of the *rpsL* gene in *Streptomyces lividans*, *Appl. Environ. Microbiol.* **69**, 4256-4259(2003)
- 2) Ochi K, Okamoto S, Tozawa Y, Inaoka T, Hosaka T, Xu J, Kurosawa K: Ribosome engineering and secondary metabolite production, *Adv. Appl. Microbiol.* **56**, 155-179(2004)
- 3) 越智幸三、岡本晋：「リボゾーム工学」による放線菌利用の新展開、*日本農芸化学会誌*, **78**, 38-41(2004)