

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03937

研究課題名(和文)新規ペプチドエピメラーゼ類の反応基盤解明

研究課題名(英文)Dissecting reaction mechanisms of novel peptide epimerases

研究代表者

大利 徹(Dairi, Tohru)

北海道大学・工学研究院・教授

研究者番号：70264679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,900,000円

研究成果の概要(和文)：(1) ペプチドグリカン新規生合成経路の中間体UDP-MurNAc-L-Ala-L-Gluの末端L-Gluのエピメリ化を触媒するMurLのX線結晶構造解析を行った結果、MurLの基質結合部位の揺らぎが判明し反応機構解析にはアデニル化された反応中間体との共結晶が必要なことがわかった。(2) リボソームにより合成されるMS-271ペプチドのC末のTrpを異性化するMsiHのX線結晶構造解析を行い、活性残基、基質結合残基、2価金属を配位するアミノ残基を同定した。(3) ポリグルタミン酸に含まれるD-Gluの比率は、生合成酵素PgsAが決定していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

(1) ペプチドグリカンの新規生合成経路に関与するMurLは、イネ白葉枯病菌(Xanthomonas属細菌)や果樹病原菌(Xylella属細菌)が利用することから、その阻害剤を見出せば特異的農薬としての開発が期待される。(2) MsiHは補酵素を要求しない異性化酵素である。その反応機構が解明できれば他の酵素に応用し安価な光学活性化化合物の製造に利用できる可能性がある。(3) ポリグルタミン酸は、乾燥土壌での保湿剤としての利用が見込まれているが分解されやすいのが難点である。D-Glu含有度が高いと分解されにくい報告がありD-Gluが100%のポリグルタミン酸の製造に応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：(1) MurL catalyzing the epimerization of the terminus L-Glu of UDP-MurNAc-L-Ala-L-Glu, an intermediate in the alternative biosynthetic pathway of peptidoglycan, was shown to activate the substrate by adenylation of the  $\gamma$ -carboxyl of the L-Glu. By crystal structure analysis, we were unable to determine the active amino acid residues of MurL, and co-crystal of MurL with a mimic of adenylation substrate was thought to be essential for estimation of the active residues and the reaction mechanism. (2) MsiH catalyzed the epimerization of C-terminal L-Trp in a ribosomal peptide MS-271. By crystal structure analysis, active amino acid residues, divalent cation trapping residues, and several substrate recognition residues were identified. (3) Polyglutamate contains D-Glu besides L-Glu. PgsA, a polyglutamate biosynthetic enzyme, was suggested to be the epimerase catalyzing isomerization of terminal L-Glu that is just ligated to the elongating polyglutamate substrate.

研究分野：生合成工学

キーワード：ペプチド エピメラーゼ ペプチドグリカン リボソームペプチド ポリグルタミン酸

### 1. 研究開始当初の背景

これまで微生物が生産する多くの低分子化合物が医薬品として開発されてきた。また近年では、特異性の高さから抗体医薬に代表される高分子医薬品も上市されている。しかし、前者では特異性の低さが、また後者では開発費の高騰が問題になっている。このような背景下、比較的コストで構造と生理活性の多様性を生み出せるペプチド系医薬品が着目されている。リボソームで合成される天然ペプチドでは、メチル化、水酸化、ランチオニン・チアゾール・オキサゾール形成などの翻訳後修飾により、多様な構造や生理活性を生み出している。ノンリボソームペプチド合成酵素 (NRPS) で合成されるペプチドでは、上記の修飾に加え、非蛋白質性アミノ酸の利用やペプチド骨格のアシル化やグリコシル化修飾も報告されている。しかし、有用な天然生理活性ペプチドの中には、生合成機構が解明されていないものが多い。その一つに天然ペプチドに含まれる D 体アミノ酸の生成機構が挙げられる。ペプチド内に D 体のアミノ酸が存在するとプロテアーゼ耐性となることが知られている。進化上、この安定化機構が有利に働いたためか D 体アミノ酸を含む天然ペプチドは多い。しかし、解明された異性化機構は polytheonamide の生合成に関与するラジカル SAM 酵素と NRPS のエピメラーゼドメインの 2 例しかない。筆者は、新たに以下の 3 種類の新規エピメラーゼを発見したが、これらは既知酵素と全く相同性がないことから、詳細な反応機構の解明を試みた。

### 2. 研究の目的

(1) 多くの微生物のペプチドグリカンの生合成では、UDP-MurNAc-L-Ala に、ラセマーゼにより L-Glu から供給される D-Glu が結合する。しかし、*Xanthomonas* 属細菌などは、Glu ラセマーゼを持たず、MurD と相同性がある MurD2 酵素が UDP-MurNAc-L-Ala に L-Glu を結合し、新規酵素 MurL が生成物末端の L-Glu を異性化 (エピメリ化) することを明らかにした (*J. Am. Chem. Soc.*, **139**, 4243, 2017)。MurL は他の機能既知酵素との相同性を有さず反応機構は未解明である。そこで、*in vitro* 反応での詳細な解析と X 線結晶構造解析を行った。

(2) リボソームにより合成されるラッソペプチド (MS-271) の C 末の Trp は D 体である。MS-271 の生合成遺伝子クラスターを取得した結果、Trp を C-末に持ち、MS-271 の全配列を含む 77 アミノ酸からなる前駆体 ORF を見出した。この事実は、C-末の Trp は翻訳後にエピメリ化されることを示唆するが、近傍には、既知の異性化酵素 (ラセマーゼやエピメラーゼ) と相同性を有する遺伝子は見いだせなかった。クラスター中の唯一の機能未知遺伝子 (*ms1H*) がエピメリ化に関与すると推定されたことから検証した。

(3) ポリグルタミン酸 (PGA) の D-Glu は、ラセマーゼにより L-Glu から供給され伸長鎖に取り込まれると長年考えられてきた。しかし、上記の *Ms1H* が PGA 生合成酵素の一つ (*PgsA*) と部分的に相同性を有していたことから、PGA 生合成においても D-Glu は L-Glu が伸長鎖に取り込まれた後に異性化 (エピメリ化) する可能性が考えられたことから検証した。

### 3. 研究の方法

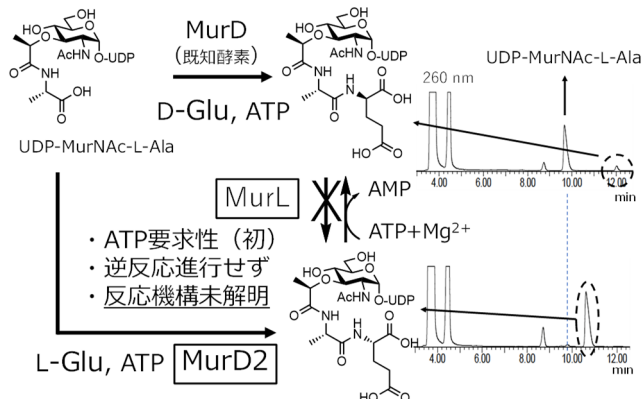
(1) 基質である UDP-MurNAc-L-Ala を既知の酵素法で調製した。また *X. oryzae* の組換え His-Tag 付きの MurL も調製し、*in vitro* 酵素アッセイと結晶構造解析に供した。

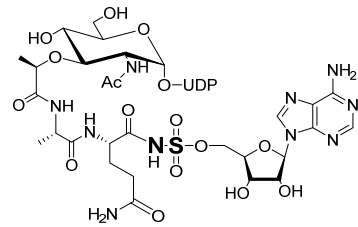
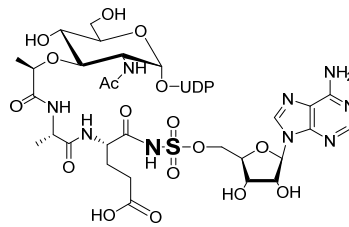
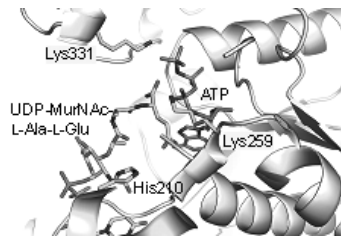
(2) MS-271 生合成遺伝子クラスターを *Streptomyces lividans* で異種宿主発現させ、C 末 Trp の異性化が進行するか検証した。また、同様の手法で異性化に必要な遺伝子を絞り込んだ。さらに 77 アミノ酸からなるプレカーサーペプチドを大腸菌で発現させ、SDS-PAGE で分離後、精製し基質として使用した。*Ms1H* も His-Tag 付きの組換え酵素として発現、精製後、*in vitro* アッセイと結晶構造解析に供した。

(3) PGA 生合成に必須な 3 つの酵素は何れも膜酵素であり *in vitro* 解析は困難である。そこで、グルタミン酸ラセマーゼ欠損大腸菌を宿主に用いた *in vivo* 解析を行った。本株に 3 つからなる PGA 生合成遺伝子 (*pgsBCA*) を導入し、重水素標識した L-Glu または D-Glu をフィード後、生成した PGA に取り込まれた D-Glu の質量分析を行い、生成した PGA に取り込まれた D-Glu の由来を検証した。また、*PgsA* は上記 *Ms1H* と部分的ではあるが相同性を有するため、*Ms1H* の結晶構造を基に *PgsA* の基質結合領域の構造を推定後、100% と 60% の D-Glu 含有 PGA を合成する 2 種類の *PgsA* 間で異なるアミノ酸残基を相互交換し、生成 PGA の D-Glu 含有率を検証した。

### 4. 研究成果

(1) MurL の解析; MurL は ATP を補酵素に用い、基質である UDP-MurNAc-L-Ala-L-Glu をアデニル化により活性化し、逆反応は触媒しないことがわかった (右図)。基質の L-Glu の  $\alpha$  位のカルボニル基がアデニル化されることを証

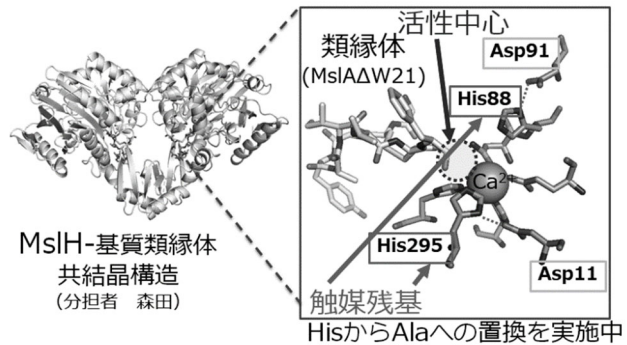
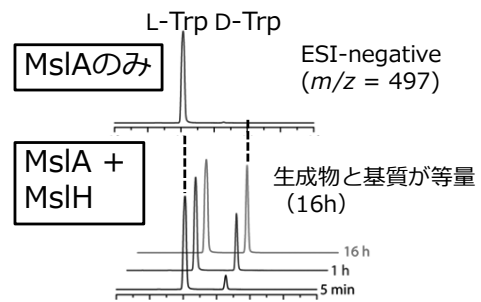




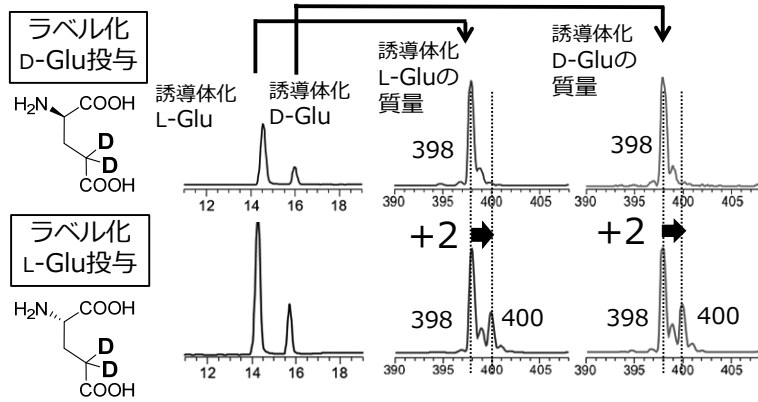
明するため、反応液に  $^{15}\text{N}$  ヒドロキシルアミンを添加し生成物を精製後、NMR 解析した。その結果、予想通り  $\alpha$  位にヒドロキサム酸の存在が確認できた。

本酵素は ATP を補酵素に用いる初の異性化酵素であり、既知酵素と相同性がなく特異的モチーフもないことから、反応機構の手掛かりを得るため X 線結晶構造を解析した。ATP アナログとの共結晶が得られ、解析の結果、基質を捕捉すると推定される領域が揺らいでおり（上左図）、基質認識残基や反応機構を推定するには、アデニル化された反応中間体や、その類縁体との共結晶を得る必要があることがわかった。そこで、これら化合物の有機・酵素合成を現在行っている（上右図）。

(2) MslH の解析 ; MS-271 生産 *Streptomyces* 属放線菌からクローニングした 9 個の生合成遺伝子を *S. lividans* で異種宿主発現させた結果、C 末端に D 体の Trp を持つ MS-271 が生産された。異性化に必要な遺伝子を絞り込んだ結果、プレカーサーペプチド遺伝子 (*mslA*)、プレカーサーペプチド認識蛋白質遺伝子 (*mslB1*)、機能未知遺伝子 (*mslH*) の共発現で異性化が進行した。そこで、プレカーサーペプチド (MslA) と組換え MslH を用いて *in vitro* 実験を行った結果、可逆的異性化活性を検出できた (右上図)。なおプレカーサーペプチドからリーダーペプチドを除去したコアペプチドを基質に用いた場合は、ほとんど異性化は進行しなかった。したがって、他のリボソームペプチド修飾酵素と同様に、異性化反応にはリーダーペプチドが必須であることが分かった。また、反応機構解明のため C 末の Trp を削除したプレカーサーペプチドとの共結晶の X 線結晶構造を解析した (右下図)。その結果、活性残基、基質結合残基、さらに 2 価の金属が含まれることが判明し配位するアミノ残基も推定できた。現在、これら残基を Ala 置換し異性化反応への関与を調べている。



(3) *pgsA* の機能解析 ; 重水素標識された D-Glu と L-Glu を化学合成した。これらを、PGA 生合成酵素遺伝子 (*pgsBCA* 遺伝子) を持つ D-Glu 要求性大腸菌 WM335 株 (Glu ラセマーゼ欠損株) に投与した。生産された PGA を酵素法でモノマーに分解後、キラルカラムで分離し、質量分析を行った。その結果、重水素標識された D-Glu を投与した際、PGA



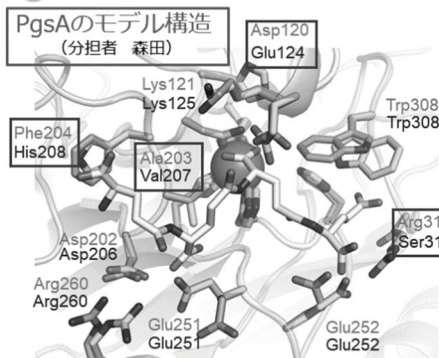
に重水素 D-Glu は全く取り込まれなかったのに対し、重水素標識された L-Glu を投与した場合は、PGA に重水素 L-Glu と D-Glu の両方が取り込まれた (上図)。以上の結果より、PGA の D-Glu は L-Glu が取り込まれた後、エピメリ化により生成することが証明された。

3 つの酵素複合体である PGA 合成酵素 (PgsABC) のいずれかがエピメリ化に関与するか調べるため、100% と 60% の D-Glu 含有 PGA を合成する 2 種類の酵素遺伝子を用いて各 *pgsBCA* 酵素遺伝子を交換し、生成 PGA の D-Glu 含有率を比較した。その結果、多くの組合せで生産能が消失したが、*pgsA* が D-Glu 含有率を決定することを示唆する結果を得た。そこで、PgsA は上記 MslH と部

分的ではあるが相同性を有することから、MsIH の結晶構造を基に PgsA の基質結合に  
関与するアミノ酸残基を推定し (右図)、100% と 60% の D-Glu 含有 PGA を生成する 2 種類の PgsA で異なるアミノ酸残基の相互置換を行ったが、全ての変異酵素が PGA 生産能を失った。そこで、一アミノ酸置換ではなく、基質結合残基を含む領域 (~7 アミノ酸残基) を入れ替えた結果、PGA が生産され、含有 D-Glu は領域の入れ換えに用いた PgsA が生産する本来の PGA の D-Glu 比率とほぼ同じであった。したがって、PgsA がエピメリ化を触媒することが強く示唆された。

● バシラス メガテリウム D体 ~60%

● バシラス アンスラニ D体 ~100%



MsIHとPgsAは部分的に相同

MsIH	ALSGDCMVTTR.....VTNLEVVPSDGRGHPVHNAVGG
●	TMVGDIMMGR.....SGNFEHPVLLLEDKKNYKADKN
●	TMVGDIMMGR.....SGNYETPILTNVDVSYKAMEKKG
	++ + + +

MsIH	SVLGCANNHAMDLGEGT.....LLSCTATFLPGQEA
●	TVLNFANNHAMDYGAKGA.....TLGFTQAFVAGAIA
●	DVLNSANNHAMDYGEDGA.....TVGFTQVHSDGMSA
	++ ++++++ + +

MsIH	HAVVGHGPHFLRGVELYR.....TRLFAPHRRYWQSL
●	DIIIVGHHPHVLSQFDVYK.....FVFDQGWTRKDSA
●	DIIIGHHPHVLSQSYEVYN.....FIFDQGWSTKNTA
	++ +++ + +

金属結合 触媒残基 基質認識

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Li Xiaojun, Shimaya Ryo, Dairi Tohru, Chang Wei chen, Ogasawara Yasushi	4. 巻 61
2. 論文標題 Identification of Cyclopropane Formation in the Biosyntheses of Hormaomycins and Belactosins: Sequential Nitration and Cyclopropanation by Metalloenzymes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 e202113189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202113189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ogasawara Yasushi, Dairi Tohru	4. 巻 48
2. 論文標題 Discovery of an alternative pathway of peptidoglycan biosynthesis: A new target for pathway specific inhibitors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 kuab038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jimb/kuab038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Feng Ruoyin, Satoh Yasuharu, Morita Hiroyuki, Ogasawara Yasushi, Dairi Tohru	4. 巻 14
2. 論文標題 Amino Acid Residues Recognizing Isomeric Glutamate Substrates in UDP-N-acetylmuramic acid-l-alanine-glutamate Synthetases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 975 ~ 978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.9b00159	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi Shohei, Ogasawara Yasushi, Satoh Yasuharu, Maruyama Chitose, Hamano Yoshimitsu, Dairi Tohru	4. 巻 15
2. 論文標題 Off-Loading Mechanism of Products in Polyunsaturated Fatty Acid Synthases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 651 ~ 656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.0c00075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Naka Mai, Ikeuchi Kenshin, Hayashi Shohei, Satoh Yasuharu, Ogasawara Yasushi, Dairi Tohru	4. 巻 14
2. 論文標題 Subtle Control of Carbon Chain Length in Polyunsaturated Fatty Acid Synthases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 2553 ~ 2556
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.9b00803	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogasawara Yasushi, Umetsu Shuhei, Inahashi Yuki, Nonaka Kenichi, Dairi Tohru	4. 巻 74
2. 論文標題 Identification of pulvomycin as an inhibitor of the futasoline pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 825 ~ 829
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-021-00465-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogasawara Yasushi, Shimizu Yohei, Sato Yohei, Yoneda Tomoki, Inokuma Yasuhide, Dairi Tohru	4. 巻 73
2. 論文標題 Identification of actinomycin D as a specific inhibitor of the alternative pathway of peptidoglycan biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 125 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-019-0252-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Shohei, Naka Mai, Ikeuchi Kenshin, Ohtsuka Makoto, Kobayashi Kota, Satoh Yasuharu, Ogasawara Yasushi, Maruyama Chitose, Hamano Yoshimitsu, Ujihara Tetsuro, Dairi Tohru	4. 巻 58
2. 論文標題 Control Mechanism for Carbon Chain Length in Polyunsaturated Fatty Acid Synthases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 6605 ~ 6610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201900771	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Shohei, Satoh Yasuharu, Ogasawara Yasushi, Maruyama Chitose, Hamano Yoshimitsu, Ujihara Tetsuro, Dairi Tohru	4. 巻 58
2. 論文標題 Control Mechanism for cis Double Bond Formation by Polyunsaturated Fatty-Acid Synthases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 2326 ~ 2330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201812623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogasawara Yasushi, Dairi Tohru	4. 巻 46
2. 論文標題 Searching for potent and specific antibiotics against pathogenic Helicobacter and Campylobacter strains	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 409 ~ 414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10295-018-2108-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimizu Yohei, Ogasawara Yasushi, Matsumoto Atsuko, Dairi Tohru	4. 巻 71
2. 論文標題 Aplasmomycin and boromycin are specific inhibitors of the futasine pathway	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 968 ~ 970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41429-018-0087-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Feng Zhi, Ogasawara Yasushi, Dairi Tohru	4. 巻 12
2. 論文標題 Identification of the peptide epimerase MslH responsible for d-amino acid introduction at the C-terminus of ribosomal peptides	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 2567 ~ 2574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0sc06308h	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lee Yuan-E, Kodama Takeshi, Win Nwet Nwet, Ki Dae-Won, Hoang Nhat Nam, Wong Chin Piow, Lae Khine Zar Wynn, Ngwe Hla, Dairi Tohru, Morita Hiroyuki	4. 巻 36
2. 論文標題 Flavonoids from <i>Woodfordia fruticosa</i> as potential SmltD inhibitors in the alternative biosynthetic pathway of peptidoglycan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 127787 ~ 127787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.127787	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kamide Tomoyuki, Takusagawa Shun, Tanaka Naoyuki, Ogasawara Yasushi, Kawano Yusuke, Ohtsu Iwao, Satoh Yasuharu, Dairi Tohru	4. 巻 68
2. 論文標題 High Production of Ergothioneine in <i>Escherichia coli</i> using the Sulfoxide Synthase from <i>Methylobacterium</i> strains	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 6390 ~ 6394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jafc.0c01846	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Shohei, Satoh Yasuharu, Ogasawara Yasushi, Dairi Tohru	4. 巻 59
2. 論文標題 Recent advances in functional analysis of polyunsaturated fatty acid synthases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 30 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cbpa.2020.04.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogasawara Yasushi, Shigematsu Mayuko, Sato Shota, Kato Hinata, Dairi Tohru	4. 巻 21
2. 論文標題 Involvement of Peptide Epimerization in Poly- $\gamma$ -glutamic Acid Biosynthesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 3972 ~ 3975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b01121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Ogasawara Yasushi, Nakagawa Yo, Maruyama Chitose, Hamano Yoshimitsu, Dairi Tohru	4. 巻 29
2. 論文標題 In vitro characterization of MitE and MitB: Formation of N-acetylglucosaminyl-3-amino-5-hydroxybenzoyl-MmcB as a key intermediate in the biosynthesis of antitumor antibiotic mitomycins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 2076 ~ 2078
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.07.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Feng Zhi, Ogasawara Yasushi, Nomura Satoshi, Dairi Tohru	4. 巻 19
2. 論文標題 Biosynthetic Gene Cluster of a d-Tryptophan-Containing Lasso Peptide, MS-271	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 2045 ~ 2048
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201800315	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogasawara Yasushi, Dairi Tohru	4. 巻 9
2. 論文標題 Peptide Epimerization Machineries Found in Microorganisms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 409 ~ 414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2018.00156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計38件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Yasushi Ogasawara and Tohru Dairi
2. 発表標題 New Peptide Epimerase in the Biosynthesis of a D-Tryptophan Containing Lasso Peptide, MS-271
3. 学会等名 Directing Biosynthesis (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wanlu Xiao, Yasuharu Satoh, Yasushi Ogasawara, Tohru Dairi
2. 発表標題 Analysis of a novel pathway for para-aminobenzoate biosynthesis in bacteria
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲間 陸、佐藤 康治、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 微細藻類由来DHA合成酵素の炭素鎖長制御機構の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅津 秀平、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 新規メナキノン生合成経路阻害剤の探索
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuan-E Lee, Takeshi Kodama, Nwet Nwet Win, Dae-Won Ki, Tohru Dairi, Hiroyuki Morita
2. 発表標題 Flavonoids from <i>Woodfordia fruticosa</i> as potential SmltD inhibitors in the alternative biosynthetic pathway of peptidoglycan
3. 学会等名 日本生薬学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅津 秀平、小笠原 泰志、稲橋 佑起、野中 健一、大利 徹
2. 発表標題 メナキノン新規生合成経路阻害剤の探索
3. 学会等名 日本放線菌学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅津 秀平、小笠原 泰志、稲橋 佑起、野中 健一、大利 徹
2. 発表標題 メナキノン新規生合成経路阻害剤の探索
3. 学会等名 第23回天然薬物の開発と応用シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島谷 諒、大利 徹、小笠原 泰志
2. 発表標題 三員環構造を有するペプチド抗生物質ベラクトシンとホルマオマイシンの生合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林 飛悠、佐藤 康治、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 微細藻類由来DHA合成酵素のdehydrataseドメインの機能解析
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wanlu Xiao, Yasushi Ogasawara, and Tohru Dairi
2. 発表標題 Linaridin natural products containing d-amino acids
3. 学会等名 日本農芸化学会北海道支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大利 徹
2. 発表標題 病原微生物が持つ特異代謝経路をターゲットとした高特異性抗生剤の探索
3. 学会等名 ファーマラボ EXPO [東京] アカデミックフォーラム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tohru Dairi
2. 発表標題 New Enzymes catalyzing peptide epimerizations
3. 学会等名 PacifiChem 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大利 徹
2. 発表標題 高機能性生体分子の創成をめざした生合成マシナリーの基盤解明～新規ペプチドエピメラーゼの発見と機能解析～
3. 学会等名 科研費-新学術領域-生合成リデザイン取りまとめシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大利 徹
2. 発表標題 有用化合物の微生物発酵生産～EPAと抗酸化剤エルゴチオネイン～
3. 学会等名 ファーマラボ EXPO 大阪 アカデミックフォーラム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲間 陸、佐藤 康治、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 微細藻類由来DHA合成酵素の炭素鎖伸長反応の解析
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 島谷 諒、大利 徹、小笠原 泰志
2. 発表標題 三員環構造を有するペプチド抗生物質ベラクトシンとホルマオマイシンの生合成研究
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山谷 優花、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 ラッソペプチドRES-701の生合成研究
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Wanlu Xiao、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 Involvement of Peptide Epimerization in the biosynthesis of Linaridin Class Ribosomally Synthesized and Post-translationally Modified Peptides
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 植物病原菌に見出した新規ペプチドグリカン生合成経路
3. 学会等名 第6回 北大・部局横断シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中尾 優文、小笠原 泰志、佐藤 康治、大利 徹
2. 発表標題 新規ATP依存ペプチドエピメラーゼMurLの反応機構解析
3. 学会等名 2020年度 日本農芸化学会北海道支部 / 日本栄養・食糧学会北海道支部 合同学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 加藤 陽菜多、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 ポリグルタミン酸生合成におけるエピメリ化酵素の同定
3. 学会等名 2020年度 日本農芸化学会北海道支部 / 日本栄養・食糧学会北海道支部 合同学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Zhi Feng, Yasushi Ogasawara, and Tohru Dairi
2. 発表標題 Identification and Characterization of the Peptide Epimerase Catalyzing Isomerization of the C-terminal L-Tryptophan Residue in the Biosynthesis of Lasso Peptide, MS-271
3. 学会等名 2020年度 日本農芸化学会北海道支部 / 日本栄養・食糧学会北海道支部 合同学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中尾優文、小笠原泰志、佐藤康治、大利 徹
2. 発表標題 新規ATP依存ペプチドエピメラーゼMurLの反応機構解析
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Zhi Feng, Yasushi Ogasawara, and Tohru Dairi
2. 発表標題 Identification and Characterization of the Novel Peptide Epimerase Responsible for the C-terminal D-Tryptophan Introduction in the Biosynthesis of Lasso Peptide, MS-271
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤陽菜多、小笠原泰志、大利 徹
2. 発表標題 ポリグルタミン酸生成におけるエピメリ化酵素の同定
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川 陽、小笠原泰志、大利 徹
2. 発表標題 抗腫瘍抗生物質マイトマイシンの生合成解析
3. 学会等名 2020年度 日本農芸化学会北海道支部 / 日本栄養・食糧学会北海道支部 合同学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川 陽、小笠原泰志、大利 徹
2. 発表標題 抗腫瘍抗生物質マイトマイシンの生合成解析
3. 学会等名 2021年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Z. Feng, Y. Ogasawara, S. Nomura, and T. Dairi
2. 発表標題 Biosynthetic Gene Cluster of a D-Tryptophan-containing lasso peptide, MS-271
3. 学会等名 International Symposium on Biopolymer Synthesis and degradation (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤 陽菜多、重松 真由子、佐藤 将太、小笠原 泰志、大利 徹
2. 発表標題 ポリグルタミン酸生合成における新規エピメリ化反応
3. 学会等名 第3回 新学術領域研究「生合成リデザイン」若手シンポジウム
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 佐藤 将太、重松 真由子、加藤 陽菜多、小笠原 泰志、大川 徹
2. 発表標題 ポリグルタミン酸生成における新規エピメリ化反応
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川 陽、小笠原 泰志、大川 徹
2. 発表標題 抗腫瘍抗生物質マイトマイシンの生合成解析
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川 陽、小笠原 泰志、丸山 千登勢、濱野 吉十、大川 徹
2. 発表標題 抗腫瘍抗生物質マイトマイシンの初期生合成機構のin vitro解析
3. 学会等名 2019年度(第34回)日本放線菌学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Z. Feng, Y. Ogasawara, S. Nomura, and T. Dairi
2. 発表標題 Biosynthetic gene cluster of a D-tryptophan-containing lasso peptide, MS-271
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia meeting on Chemical Biology and Drug Discovery (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Ogasawara, Y. Nakagawa, C. Maruyama, Y. Hamano, and T. Dairi
2. 発表標題 In vitro characterization of early steps in the biosynthesis of antitumor antibiotics mitomycins
3. 学会等名 3rd International Conference on Natural Product Discovery and Development in the Genomic Era (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Z. Feng, Y. Ogasawara, and T. Dairi
2. 発表標題 Investigation of a novel epimerase in the biosynthesis of D-tryptophan containing lasso peptide, MS-271
3. 学会等名 2020年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Zhi Feng, Yasushi Ogasawara, Satoshi Nomura and Tohru Dairi
2. 発表標題 Biosynthetic Gene Cluster of $\alpha$ -D-Tryptophan Containing Lasso Peptide, MS-271
3. 学会等名 2018年度(第33回)日本放線菌学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Zhi Feng, Yasushi Ogasawara, Satoshi Nomura and Tohru Dairi
2. 発表標題 Biosynthetic Gene Cluster of $\alpha$ -D-Tryptophan Containing Lasso Peptide, MS-271
3. 学会等名 2nd China-Japan Joint Symposium on Natural Product Biosynthesis (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zhi Feng, Yasushi Ogasawara, Satoshi Nomura and Tohru Dairi
2. 発表標題 Biosynthetic Gene Cluster of a D-Tryptophan Containing Lasso Peptide, MS-271
3. 学会等名 2019年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ペプチドの立体構造を反転させる新規酵素を発見～生理活性ペプチドの安定化への貢献に期待～  
<https://www.hokudai.ac.jp/news/2021/02/post-794.html>

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森田 洋行  (Morita Hiroyuki)  (20416663)	富山大学・学術研究部薬学・和漢系・教授    (13201)	
研究分担者	濱野 吉十  (Hamano Yoshimitsu)  (50372834)	福井県立大学・生物資源学部・教授    (23401)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	North Carolina State University			