イオノフォアポリエーテル合成における骨格構築機構 酵素的エポキシド開環反応によって多数のエーテル環を効率的に構築

ポリエーテル化合物とは、5員環から10員環までのサイズの異なるエーテル環が複数連結したポリエーテル骨格を有する天然有機化合物の総称であり、イオノフォア活性、イオンチャネル阻害活性、抗腫瘍性、抗マラリア活性など、多様な生理活性を示す。本化合物群は、他の天然物にはみられない特徴的な生理活性と複雑な化学構造を有していることから多くの研究者の注目を集め、全合成研究や構造活性相関研究が活発に展開されてきた。また、「30個以上にも及ぶエーテル環をもつポリエーテル型天然物を生物はどのようにしてつくっているのか?」という点にも興味をもたれ、1970年代から数多くの生合成研究が行われてきた。その過程で、1983年にはポリエーテル骨格の構築機構を統一的に説明する「ポリエン-ポリエポキシド仮説」が提唱された⁽¹⁾。これは、①ポリケタイド合成酵素 (PKS) により生合成された鎖状ポリオレフィン前駆体に対する立体選択的なエポキシ化、②生成したポリエポキシドの位置選択的なエポキシド開環反応、によりポリエーテル骨格が構築されるというものである (図1-A)。

2001年以降、ポリエーテル骨格の構築を担う酵素遺

伝子を特定するため、放線菌が生産する家畜用の抗コシジウム剤であるモネンシンに加えてナンチャンマイシン、ナイジェリシン、ラサロシド、サリノマイシンの生合成遺伝子クラスターが相次いで取得された。これらイオノフォアポリエーテル生合成遺伝子クラスターの解析では、「ポリエン-ポリエポキシド仮説」において鍵となる反応を触媒することが予想される2種類の遺伝子〔エポキシ化酵素 (EPX) 遺伝子、エポキシド加水分解酵素 (EH) 遺伝子〕が高く保存されていることが明らかにされた。さらに、遺伝子破壊実験による両遺伝子の機能解析の結果、EPXとEHがそれぞれエポキシ化とエーテル環構築に関与することが支持された。こうした分子生物学的手法に基づく生合成遺伝子の特定を契機として、近年、2環性ポリエーテルであるラサロシド (1) を対象としたポリエーテル骨格構築酵素の機能解析研究が活発に進められている。

1は、放線菌 *Streptomyces lasaliensis* から単離されたイオノフォアポリエーテルであり、サイズの異なる2つのエーテル環〔テトラヒドロフラン (THF)-テトラヒドロピラン (THP)] を部分構造として有する。こうし

図1 ■ Lsd19が触媒する酵素的エポキシド開環反応 (A)、Lsd19の触媒機構 (B)、イオノフォアポリエーテルの生合成に関与するEH遺伝子とEPX遺伝子 (C)

たエーテル環のサイズの違いは、エポキシド開環反応の際の環化様式の違い（THF環：5-*exo*環化，THP環：6-*endo*環化）に起因するものであり、後者はエネルギー的には不利な反応であることが知られている。この有機合成では困難な反応をEHが如何にして制御しているのかという点については、多大な関心が集められている。こうした背景の下、ラサロシド生合成においてEHと予想されたLsd19の機能同定、基質特異性の検討、触媒機構解析が行なわれてきた。

1の化学構造およびPKSのドメイン構造などからLsd19の基質は2と予想され、対応するジエンに対するShi不斉エポキシ化により化学合成された。組換えLsd19と2との酵素反応生成物の解析では、中間体に相当する3とTHF-THP環化体1が主生成物として確認された。一方、基質を酸処理した場合には、THF-THF環化体4のみが生成する。これより、Lsd19は5-*exo*環化反応と6-*endo*環化反応を厳密に制御しながら数珠玉型のポリエーテル骨格を構築する酵素であることが世界で初めて明らかにされた（図1-A）⁽²⁾。また、Lsd19によるエポキシド開環反応はビスエポキシド2の構造を簡略化したアナログ体（5～7）でも進行して対応するTHF-THP環化体を与えること、末端エポキシドの立体化学が非天然型のビスエポキシドでは2度目のエポキシド開環反応の反応様式が6-*endo*型から5-*exo*型へと改変してTHF-THF環化体が生成することも見いだされた（図1-A）⁽³⁾。こうした基質特異性に対する検討結果は、Lsd19による触媒機構を理解する上で有益な知見を与えるものと考えられている。さらに、触媒アミノ酸残基を特定するための部位特異的な変異の導入実験も行なわれた。各種変異体の解析結果から、N末端ドメイン（Lsd19A）上の一組の酸性アミノ酸残基（D38, E65）が1回目の5-*exo*環化反

応に、C末端ドメイン（Lsd19B）上の一組の酸性アミノ酸残基（D170, E197）が2回目の6-*endo*環化反応における触媒残基であることが明らかにされた。また、単独で発現したC末端ドメインにも6-*endo*環化活性があることが確認されている。これより、Lsd19による2段階のエポキシド開環反応は独立した2つのドメインにより別々に触媒されることが明らかにされた（図1-B）⁽⁴⁾。最近ではLsd19の立体構造解析も行なわれ、各ドメインによる環サイズの制御機構についても明らかになりつつある⁽⁵⁾。

Lsd19による酵素的エポキシド開環反応の化学的な解析により、仮説の提唱から25年を経て、ようやく生物による骨格構築戦略の一端が垣間見えてきた。最近になり、3回のエポキシド開環反応を必要とするモネンシンの生合成に関与するEHの機能解析も行なわれ、Lsd19AとLsd19Bに相当する2つのEH（MonBI, MonBII）が協同して作用することでエポキシド開環反応が進行することも報告された（図1-C）⁽⁶⁾。以上の研究成果から、生物は少数の酵素を上手に機能させることで多数のエーテル環を効率的に構築しうることが示唆された。これは、冒頭で述べた30個以上のエーテル環を構築する際にも適用されている普遍的な生合成戦略ではないかと考えられる。今後、これまでに報告例のないEPXを含めたポリエーテル骨格構築酵素群の機能解析が進められ、生合成機構の全容が明らかになることを期待する。

- 1) D. E. Cane *et al.* : *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 3594 (1983).
- 2) Y. Shichijo *et al.* : *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 12230 (2008).
- 3) Y. Matsuura *et al.* : *Org. Lett.*, **12**, 2226 (2010).
- 4) A. Minami *et al.* : *Org. Lett.*, **13**, 1638 (2011).
- 5) K. Hotta *et al.* : *Nature*, DOI: 10.1038/nature10865.
- 6) K. Sato *et al.* : *Tetrahedron Lett.*, **52**, 5277 (2011).

（南 篤志，及川英秋，北海道大学大学院理学研究院）

アディポネクチンの新たな機能 肥満症，2型糖尿病の新規治療法への期待

日本人の糖尿病患者数は増加し続けている。その主因は、高脂肪食や運動不足などによって肥満・インスリン抵抗性要因が増加しているためと考えられる。これらは、メタボリックシンドローム・2型糖尿病を惹起し、我が国の死因の第一位を占める心血管疾患の主因になっていると考えられる。したがって、肥満・インスリン抵

抗性の原因解明とそれに立脚した根本的な予防法や治療法の確立がきわめて重要である。

筆者らはまず、高脂肪食による肥満・脂肪細胞肥大・インスリン抵抗性について欠損マウスを用いて解析し、転写因子PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) とその共役因子CBP (コアクチベーター) が