

## 微生物のニトロ化戦略

富田 宏矢

ダイナマイトの主成分であるニトログリセリンや TNT 火薬のように、ニトロ基 (-NO<sub>2</sub>) あるいは硝酸エステルを複数持つ化合物は非常に危険な爆発性を持つ。その一方、ニトログリセリンは狭心症の治療薬としての効果を持ち合わせており、またニトロ基を持つクロラムフェニコールは優れた抗菌薬の一つとして世界中で使われている。このように、ニトロ基は化合物にさまざまな性質を与える、とても面白く重要な官能基である。

自然界において、生物はその体内・細胞内で実に多種多様な化合物を絶えず生合成している。これらの化合物は、脂肪酸やアミノ酸など生物が生きていくうえで必要な化合物群（一次代謝産物）と、フェロモンや抗生物質など必ずしも必要ではない化合物群（二次代謝産物）とに大別される。ニトロ基を持つ化合物は生物からは基本的には見いだされないものの、*Streptomyces* 属放線菌をはじめとする、いくつかの微生物はニトロ基を持った二次代謝産物を生産する。そのため、微生物がそれらのニトロ基をどのようにして作っているのかに興味を持たれてきた。

2004年、*S. thioletus* が生産する抗菌活性物質 aureothin の生合成研究で、AurF という酵素が *p*-アミノ安息香酸のアミノ基 (-NH<sub>2</sub>) を、酸素分子 (O<sub>2</sub>) を利用してニトロ基へと変換することが報告された<sup>1)</sup>。これは酵素反応でニトロ基が合成されることを初めて証明した例である。その後、別の放線菌が生産するいくつかのニトロ化合物についても同様に、もともと分子内に存在するアミノ基が酵素により酸化されて作られることが明らかとなり、微生物がニトロ基を作る戦略の一端が明らかとなった。

一方、この機構では説明が難しい化合物もあった。ジャガイモそうか病の原因菌である *S. scabies* は、その原因物質である植物毒素 thaxtomin を生産する。この化合物はジベプチドであり、一つのアミノ酸は 4-ニトロトリプトファン (4-NTrp) である。トリプトファンは細胞内ではごくありふれたアミノ酸なので、この菌には何らかの方法でトリプトファンにニトロ基を導入する酵素が存在すると考えられた。2012年、Barry らは 4-NTrp がシトクロム P450 酵素 TxtE によって合成されることを発見し、この謎を解いた<sup>2)</sup>。TxtE は、一酸化窒素合成酵素 TxtD から供給される一酸化窒素 (NO) を利用し、トリプトファンの 4 位に選択的にニトロ基を導入する。多くの場

合、シトクロム P450 は基質の水酸化反応を触媒する酸化酵素ファミリーとして知られるが、ニトロ化反応を触媒することは知られていなかった。そのため、この発見は生物学や酵素学の分野に非常に大きな衝撃を与えた。これは先に述べたアミノ基の酸化とは異なり、ニトロ基を直接導入する第二の生物戦略である。また、協同的にニトロ化を行う TxtE、TxtD が生産菌のゲノム上で同じオペロン内に隣接してコードされていることは大変興味深い。これと同様に、他の微生物ゲノムにおいても P450 と一酸化窒素合成酵素が同一オペロンにコードされている例が散見されることから、トリプトファン以外の化合物をニトロ化する未知のシトクロム P450 酵素が潜んでいる可能性がある。

人類が芳香族ニトロ化合物を化学合成する場合、硝酸と硫酸を使う古典的な方法が今もなお広く使われているが、これが非常に危険な反応条件であることは言うまでもない。そのため、硝酸以外の窒素酸化物を使う、より安全なニトロ化法も積極的に開発されている<sup>3)</sup>が、有機溶媒の大量使用などが懸念される。一方、酵素を使ったニトロ化反応は水系で温和な条件において位置選択的に進行することから、TxtE のような直接的なニトロ化酵素を使って多様な化合物のニトロ化反応を行えるようになれば、化学的合成法よりも簡便で環境負荷が少なく、有用である。そのためには、新たなニトロ化酵素の発見、そして酵素工学的手法によるニトロ化酵素の活性の増強、基質選択性の改変が必要である。2018年に酵素の活性を人工的に改変する指向性進化 (directed evolution) でノーベル化学賞を受賞した Arnold らのグループは、2016年、TxtE にわずか 1 つのアミノ酸置換変異を加えることでニトロ化の位置選択性が 4 位から 5 位へシフトすることを報告している<sup>4)</sup>。このような研究が積み重なれば、いつか人類がバイオの力でさまざまな化合物に自在にニトロ基を導入できる日が来るかもしれない。

- 1) He, J. and Hertweck, C.: *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 3694 (2004).
- 2) Barry, S. *et al.*: *Nat. Chem. Biol.*, **8**, 814 (2012).
- 3) 鈴木仁美: 東京化成工業株式会社, TCI メール No. 106 (2000).
- 4) Dodani, S. C. *et al.*: *Nat. Chem.*, **8**, 419 (2016).