

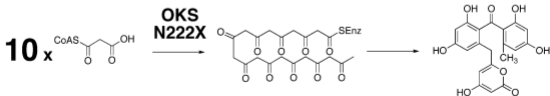
27H-am08

結晶構造に基づく植物ポリケタイド合成酵素の機能改変

○鰐淵 清史¹, 朝岡 雅博¹, 野口 博司¹, 阿部 郁朗^{1,2} (¹静岡県大葉, ²JSTさきがけ)

【目的】オクタケタイド合成酵素(OKS)およびペンタケタイドクロモン合成酵素(PCS)は、それぞれ 8 分子あるいは 5 分子のマロニル CoA の縮合反応を触媒するキダチアロエ (*Aloe arborescens*) 由来新規Ⅲ型ポリケタイド合成酵素である。本研究では、これら酵素の X 線結晶構造解析に基づき、活性中心キャビティを構成するアミノ酸残基に部位特異的変異を導入することにより、酵素触媒機能のさらなる拡張をめざした。

【方法・結果】既に我々は、OKS の活性中心キャビティの大きさと形状を決める Gly207, Asn222、また、PCS の Met207, Phe80, Tyr82 への変異の導入により、マロニル CoA 縮合数と生成物特異性が決定されることを明らかにした。今回我々は、OKS の Asn222 に焦点を絞り、これを各種アミノ酸に網羅的に置換することで、酵素活性に与える影響について精査した。その結果、N222G, N222A, N222T, N222Y などの点変異の導入により、マロニル CoA 10 分子の縮合による非天然型デカケタイド SEK15 の生成を見出した。一方、PCS については、OKS とアミノ酸レベルで 92% の配列相同性を示すものの、同様な変異の導入により SEK15 の顕著な生成は認められず、両酵素の構造の微妙な違いが示された。



【文献】Abe *et al.*, *JACS* 127, 12709 (2005); *JACS* 129, 5976 (2007); *Chem. Biol.* 14, 359 (2007).