

27H-am03

糸状菌由来6-メチルサリチル酸合成酵素の機能解析

○森口 智美¹, 藤井 勲², 海老塚 豊¹(¹東大院薬, ²岩手医大薬)

【目的】*Aspergillus terreus* 由来の 6-メチルサリチル酸合成酵素 ATX は、縮合酵素 KS、アシル基転移酵素 AT、脱水酵素 DH、ケト還元酵素 KR、アシルキャリアープロテイン ACP の各ドメインからなり、Iterative タイプ I ポリケタイド合成酵素(IPKS)として最小のタンパクである。我々は、その高次構造や反応制御機構の詳細を明らかにすることを目的として、酵母や大腸菌を宿主とした発現系を用いて種々の解析を進めている。これまでに単独では不活性な末端欠失体や、触媒ドメイン変異体を作製し、酵母共発現系を用いて、ATX のサブユニットが互いに相互作用し活性中心を構成するために必要な領域 (ID)¹⁾ を同定し、また、どの触媒ドメインの変異も他のサブユニット上の同一ドメインにより相補されることなどを明らかにしてきた。これらの結果から、ATX の高次構造として、2つのポリペプチド鎖が head-to-head/tail-to-tail で近接し、全体として4量体を形成するモデルを新たに提案している。今回、ATX の脱水酵素 DH ドメインについて、新たな知見を得たので報告する。

【方法と結果】ATX 触媒ドメイン変異体の酵母内での発現において、KR 変異体はトリケタイド中間体が環化した triacetic acid lactone (TAL) を合成したが、DH-KR 共変異体は TAL を合成しなかったことから、DH は中間体の脱水以外の反応を触媒する可能性が示唆された。そこで、DH とその下流に位置する ID 領域のみからなるポリペプチド ATXDH を、全長の DH 変異体とともに酵母内で共発現させたところ、形質転換酵母による 6-メチルサリチル酸の生成が確認された。また、大腸菌で発現した ATXDH と DH 変異体の *in vitro* 反応においても、ATXDH が独立したタンパクとして機能することを確認した。現在、ATXDH タンパクの精製、機能解析とともに、結晶化に向けた大量調製についても併せて検討中である。

1) T. Moriguchi, *et al.*: *ChemBioChem*, 7, 1869-1874(2006).