

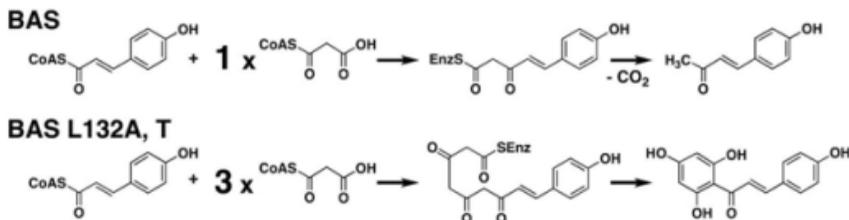
27G-pm06

結晶構造に基づくダイオウ由来ベンザルアセトン合成酵素の機能改変

○下川 良彦¹, 森田 洋行¹, 野口 博司¹, 阿部 郁朗^{1,2} (¹静岡県大薬, ²JSTさきがけ)

【目的】ダイオウ (*Rheum palmatum*) 由来ベンザルアセトン合成酵素 (BAS) は, 1分子のクマロイル CoA と 1分子のマロニル CoA との脱炭酸的縮合により, ジケタイトの骨格を構築する III 型植物ポリケチド合成酵素である. 既に我々は, BAS に特徴的な Leu215 残基が, BAS のマロニル CoA 縮合数と生成物特異性を決定することを報告した. 一方, BAS 酵素の X 線結晶構造解析に基づく, Leu215 残基とともに, Leu132 残基も同様に BAS のジケタイト合成活性に重要である可能性が強く示された. 今回我々は, BAS のさらなる触媒機構と構造機能相関の解明を目指し, Leu132 への変異導入が BAS の酵素活性に与える影響について検討した.

【方法・結果】変異の導入は PCR 法を用いて行い, 大腸菌において GST 融合蛋白質として発現させた. 次にグルタチオン・アフィニティー・カラムによる精製を行い, GST-tag 切断・除去済みの蛋白質について, クマロイル CoA とマロニル CoA を基質として酵素反応を行った. その結果, Leu132 の Ala 及び Thr 置換体では, カルコン合成能を獲得することが確認された. BAS のマロニル CoA 縮合数と生成物特異性が, Leu215 に加えて Leu132 残基によっても決定されることが示された.



【文献】 Abe *et al.* *Eur. J. Biochem.* 268, 3354 (2001); *J. Biol. Chem.* 278, 25218 (2003).