

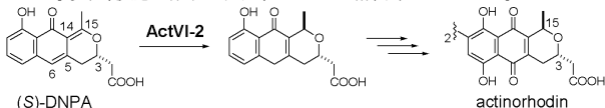
28P-am009

アクチノロジン生合成における立体特異的還元酵素 ActVI-2 の機能解析

○田口 貴章¹, 伊藤 崇敬², 海老塚 豊², 市瀬 浩志¹ (¹武蔵野大薬研, ²東大院薬)

【目的】放線菌 *Streptomyces coelicolor* A3(2)の生産する芳香族ポリケタイド抗生物質 actinorhodin はピラン環上 3 位と 15 位の 2 箇所 に不斉点を有する。このうち 15 位の立体化学については、生合成酵素 ActVI-2 が下図のように中間体(S)-DNPA を立体特異的に還元し制御していることを我々は *in vivo* 実験系で示した¹⁾。このような 1,4 還元を触媒する生合成酵素は稀であり、この反応機構の解明は新規化合物創出に有用と考え、ActVI-2 の酵素学的性状を解析することとした。

【方法・結果】発現ベクター pRSET B に *actVI-2* を挿入したプラスミドで大腸菌 BL21 (DE3) pLysS を形質転換し、LB 培地で培養後、菌体を PBS に懸濁し凍結融解法で破碎した。得られた粗酵素液を SDS-PAGE で分析し、ActVI-2 のアミノ酸配列から計算される分子量 37.8kDa 付近にバンドを確認した。この粗酵素液を用い(S)-DNPA を基質とした *in vitro* 反応を行い、30 °C でインキュベート開始後 15 分、30 分、45 分時点で反応溶液中の基質を HPLC で定量分析した。ベクターのみで形質転換した大腸菌由来の粗酵素液を negative control として同様の操作を行い基質の減少速度を比較したところ、ActVI-2 存在下での基質の減少は有意に速く、*in vitro* での還元反応の進行を示唆するものだった。現在、反応生成物の同定、ActVI-2 の精製等を進めている。



1) 田口ら、第 50 回天然有機化合物討論会(福岡)講演要旨集、p.541(2008)。