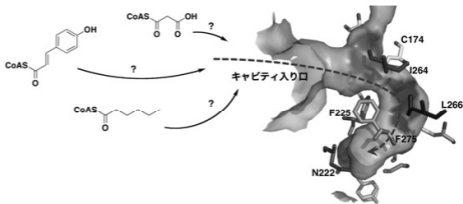


27G-pm08

結晶構造に基づくアロエ由来オクタケタイド合成酵素の機能改変、基質導入トンネルの構造修飾

○猿渡 隆佳¹, 鰐淵 清史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】キダチアロエ (*Aloe arborescens*) 由来オクタケタイド合成酵素 (OKS) は、マロニル CoA 8 分子の縮合を触媒するⅢ型ポリケタイド合成酵素である。カルコン合成酵素とは異なり、クマロイル CoA とマロニル CoA を同時に基質として作用させた場合、マロニル CoA のみに由来する生成物を与える。本研究では、結晶構造解析に基づき、活性部位基質導入部に位置する Ile264, Leu266 残基に点変異を導入し、開始基質に対する特異性の変化を狙った。【方法】部位特異的変異酵素の作成は PCR 法により行い、大腸菌において異種発現させた精製組み換え酵素を用いて、酵素機能を検討した。【結果】各変異体において、クマロイル CoA とマロニル CoA を同時に基質として作用させると、野生型酵素とは異なる触媒活性が確認された。特に、Leu266 への変異導入では、クマロイルトリ酢酸ラクトン、ヘキサケタイド・スチルベンなど、クマロイル CoA を開始基質としたプロダクトの生成が見られるようになった。また、L266V 置換体において、新規プロダクトが確認されており、現在解析を急いでいる。



【文献】Abe, *Chem. Pharm. Bull.* 56, 1505 (2008); *蛋白質核酸酵素* 52, 996 (2007).