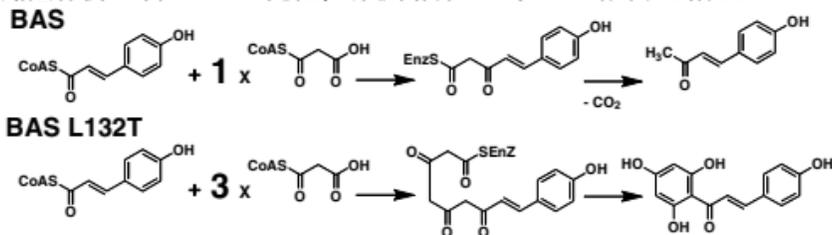


28TM-pm02

ベンザルアセトン合成に関わる植物ポリケタイド合成酵素の構造機能解析

○下川 良彦¹, 森田 洋行², 野口 博司¹, 阿部 郁朗² (¹静岡県大薬, ²東大院薬)

【目的】ダイオウ (*Rheum palmatum*) 由来ベンザルアセトン合成酵素 (BAS) はジケタイド骨格形成を触媒するⅢ型ポリケタイド合成酵素である。既に我々は先の薬学会で、X線結晶構造解析に基づき、BASに特徴的な Leu132 残基を Thr, Ala に置換した変異酵素がカルコン合成能を獲得する事を報告した。今回、BASのさらなる触媒機構の解明を目指し、Leu132の他のアミノ酸への変異、さらに、129-133番目のアミノ酸によって構成されるループ (Loop 129-33) への変異導入が酵素活性に与える影響について検討した (CHS ナンバリング)。カルコン合成酵素の Leu132 残基を含むループ構造については、近年 Noel らにより、水分子を介した Thr-Glu-Ser 水素結合ネットワーク (アルドールスイッチ) の形成により、カルコンとスチルベンの作り分けに関与することが報告されている。【方法・結果】Leu132 への点変異酵素、及び Loop 129-33 を CHS の対応する残基に置換した変異酵素を作成した。GST との融合蛋白質として大腸菌において異種発現させ、グルタチオン・アフィニティー・カラムにより精製の後、GST-tag を切断・除去した精製酵素を用いて機能解析を行った。現在、触媒活性に与える影響を精査している。



【文献】Morita, Shimokawa, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press (2009).