

# 25Q-am03

## 立体選択的な環化反応を触媒する酵素 CghA の反応機構解析

○横山 葵<sup>1</sup>, 岸本 真治<sup>1</sup>, 佐藤 道大<sup>1</sup>, 原 幸大<sup>1</sup>, 恒松 雄太<sup>1</sup>, 橋本 博<sup>1</sup>, 渡辺 賢二<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>静岡県大薬)

**【背景・目的】** 糸状菌 *Chaetomium globosum* によって生産される Sch210972 は、その分子内にオクタリン (octahydronaphthalene) 骨格を有することから、生合成に Diels-Alder 反応が関与すると推測されていた。我々はこれまでに、*C. globosum* における遺伝子破壊実験、*Aspergillus nidulans* 異種宿主発現系による生合成系の再構築により、Diels-Alder 反応を触媒する酵素遺伝子として *cghA* を同定した<sup>1</sup>。*cghA* 存在下における生合成産物は単一の立体異性体であるのに対し、非存在下では非天然型のジアステレオマーが生産されたことから、CghA は立体選択的な Diels-Alder 反応を触媒する酵素と予想された。そこで、本研究においては CghA の触媒機構を実験的に解明することを目指した。

**【方法・結果】** タンパク質の X 線結晶構造解析により、CghA の触媒する反応の機構を解析できると考えた。はじめに、*C. globosum* より調製した cDNA をもとに 5'-および 3'-RACE 法により *cghA* の全遺伝子配列を決定した。種々検討の結果、コドン最適化させた *cghA* 合成遺伝子の利用により、大腸菌を宿主とした目的タンパク質の大量生産に成功した。続いて、クロマトグラフィーによる精製、結晶化条件のスクリーニングを経て、CghA タンパク質結晶の獲得に成功した。

1. Sato, M. *et al. ChemBioChem* **2015**, *16*, 2294-2298.

