

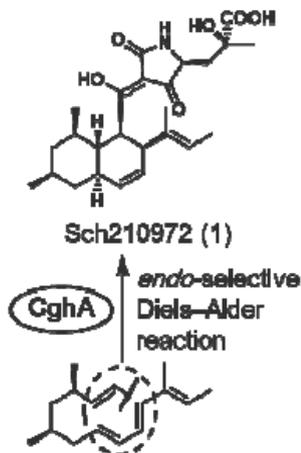
21R-pm15

立体選択的な Diels-Alder 反応を触媒する酵素 CghA の触媒機構解明

○岸本 真治¹, 横山 葵¹, 佐藤 道大¹, 前田 直哉¹, 恒松 雄太¹, 原 幸大¹, 橋本 博¹, 渡辺 賢二¹ (静岡県大薬)

【目的】天然には酵素による立体選択的な Diels-Alder 反応で合成されたと考えられる化合物がいくつも見出されているが、反応を担う酵素やその触媒機構が明らかとなっているのはごく一部である。近年、我々は糸状菌 *Chaetomium globosum* の生産する化合物 Sch210972 (**1**) の生合成において酵素 CghA が *endo* 選択的な Diels-Alder 反応を触媒していることを見出し¹, X 線結晶構造解析により CghA の構造を明らかにした²。今回、CghA による Diels-Alder 反応の触媒機構を解明すべく、各種実験を行ったので報告する。

【方法・結果】CghA と生成物である **1** の相互作用を調べるために、共結晶化実験を行った。酵素の 5 倍量の化合物 **1** を加えた条件で複数の結晶が得られ、これを用いて X 線結晶構造解析を行ったところ、エノールがケトンへと異性化した状態の **1** が CghA と結合している構造を明らかにすることができた。続いて共結晶中で **1** と相互作用しているアミノ酸残基に変異を導入し、糸状菌を用いた *in vivo* での解析と、モデル基質と精製酵素を用いた *in vitro* での解析を行った。この結果、基質結合部位に存在する複数のアミノ酸残基 (Trp183, Trp235, Ala242, Met257, Gly389, Val391) が酵素活性に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。



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

2. 横山 葵ら. 日本生薬学会第 64 回年会 (千葉) **2017**, 1C-06.