

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	アズラクトン合成酵素の分子基盤の解明と新規化合物創製				
研究組織	代 表 者	所属・職名	静岡県立大学薬学部・講師	氏名	岸本 真治
	研究分担者	所属・職名	静岡県立大学薬学部6年	氏名	青木 義光
		所属・職名	静岡県立大学薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二
		所属・職名	東京大学薬学部・准教授	氏名	森 貴裕
		所属・職名	東京大学薬学部・教授	氏名	阿部 郁郎
	発 表 者	所属・職名	静岡県立大学薬学部・講師	氏名	岸本 真治

講演題目
アズラクトン合成酵素の分子基盤の解明と新規化合物創製
研究の目的、成果及び今後の展望
微生物や植物は医薬品、農薬や研究用試薬などに用いられる多様な二次代謝物を生産する。これらは二次代謝酵素によって生合成されているが、近年我々は二次代謝酵素である AlSidE がアズラクトンと呼ばれる高反応性の化合物の一種である fumarylazlactone を生産することを世界に先駆けて発見した (Kishimoto, S. et al. (2023) JACS,)。アズラクトンは求電子性と求核性を併せ持った化合物であり、温和な条件下で様々な化合物と反応する。AlSidE はどのようなメカニズムでアズラクトンを生産しているのか。またどのようなアミノ酸配列を有する酵素がアズラクトンを生産するのか。この二つの問いを明らかにできれば新たなアズラクトン合成酵素の取得につながり、得られた新規酵素を用いた反応で新規化合物を創製できると期待される。そこで本研究ではアズラクトン合成酵素の分子基盤を解明すること、およびこれを応用して新規化合物を創製することを目的とした。 これまでに精製した AlSidE の全長酵素を用いてクライオ電顕における解析を行ったところ、像が得られたものの 6 つあるドメインのうち 1-2 つのドメイン程度のサイズの像が得られたのみであった。これは AlSidE がコンフォメーションを複数ステップの反応を触媒しているために起こった事象であると考えられた。そこでアズラクトン形成に重要な C 末端側のドメインのみにした AlSidE-TC_Tを作成し結晶構造解析を行うこととした。メカニズム解析には基質の結合した構造が必要となるが、本来の基質である Fumarylalanine そのものでは C_Tドメインの機能により容易に脱離すると予想されたため、基質ミミックである ethylsulfonylalanine を導入し結晶化を行った。良好な分解能を与える酵素結晶が得られたものの加水分解が進行して基質ミミックは脱離していた。しかし apo 体の構造決定ができたことから基質の結合が予想される部位に変異を導入することでそれらのアミノ酸残基が酵素活性に重要であることが明らかとなった。 今後は加水分解が起きない別の基質ミミックを導入した結晶化やクライオ電顕での構造解析を行うことでより詳細なメカニズム解明が達成できると期待される。