

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	酵素の耐熱化により新規化学反応を創出する				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	藤浪 大輔
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	藤浪 大輔

講演題目	耐熱性プレニル転移酵素 PalQ の創出
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>酵素の潜在的な反応ポテンシャルは、反応温度、溶媒、基質条件などによって制限されている。本研究では、酵素の耐熱化によって未踏の反応空間を拡張することを目的とする。</p> <p>プレニル転移酵素 PalQ は、基質ペプチドの C 末端に存在するトリプトファン¹の Cγ 炭素に対して、forward 向きにプレニル化を行う。この反応に伴い、インドールの五員環は脱芳香化される。さらに、Cδ2 位炭素と主鎖アミドとの間に共有結合が形成され、結果としてピロリジン環を含む 6/5/5 の三環性トリプトファン 骨格が生じる。このピロリジン環により、ペプチド結合は cis-trans 異性体として平衡状態に存在する。</p> <p>PalQ は低効率ながら、N 末端にあるトリプトファンにもプレニル基を転移する能力を持つ。N 末端トリプトファン¹の NMR 解析の結果、Cδ2 位に forward 向きのプレニル化が起こることが明らかになった。これに関して、以下の 3 つのメカニズムが考えられる：</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cγ 炭素への forward プレニル化が先行し、その後 1,2-アルキルシフトにより Cδ2 位へ転位する • Cδ2 炭素への reverse プレニル化が先行し、3,2-cope 転位により Cδ2 位に移動する • Cδ2 炭素への forward プレニル化が直接的に起こる <p>このうち (ii) のメカニズムにおいて、ペリ環化反応は温度または光に依存することが予想される。研究仮説として、高温条件下で反応を行うことで、3,2-cope 転位ではなく 3,3-aza-cope 転位が優位となり、その結果として Nϵ1 窒素に forward 向きでプレニル基が転位する可能性を着想した。</p> <p>この仮説を検証するため、AlphaFold によって予測された PalQ の立体構造と、アミノ酸配列の統計解析に基づき、新規の PalQ 変異体 を設計した。この変異体では、全 312 残基中 23 か所にアミノ酸変異が導入されており、これにより PalQ の耐熱性は約 70℃から 100℃以上へと大幅に向上した。さらに、変異体は 121℃でのオートクレーブ処理後も酵素活性を保持していた。</p> <p>今後の展望としては、室温および 100℃でそれぞれ反応を実施し、生成される酵素産物の化学構造の比較を行う予定である。また、ペリ環化反応において一時的に形成される中間体の NMR 検出にも挑戦する。</p>