

研究区分	教員特別研究推進（国際共同研究・国際交流の促進）
------	--------------------------

研 究 テーマ	協定締結・交流協定締結を目的としたスタンフォード大学および多国間共同研究				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二
	研究協力者	所属・職名	米国スタンフォード大学 ・教授	氏名	Chaitan Khosla
		所属・職名	米国カリフォルニア大学 ロサンゼルス校・教授	氏名	Kendall Houk
		所属・職名	米国カリフォルニア大学 ロサンゼルス校・教授	氏名	Yi Tang
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二

講演題目
酵素的 <i>anti</i> -Baldwin 則による梯子状ポリエーテル生合成メカニズムの解明
研究の目的、成果及び今後の展望
本研究課題ではスタンフォード大学との大学間協定締結を目的とし、研究交流の深化を図るべく、非経験的量子化学 (<i>ab initio</i> quantum) を基盤とした、反応遷移状態における計算化学、マイクロ秒レベルの分子動力学、タンパク質デザインとそれを用い化合物を生産するための生合成を合理的に構築に取り組む。本研究課題で主要研究分担者として Kendall Houk 教授および Yi Tang 教授との共同研究に取り組んだ。渦鞭毛藻などが生産する梯子状ポリエーテル天然物は 5 から 9 員環のエーテル環が <i>trans-syn-trans</i> に縮環した共通の特徴を有しており、一見良く似た構造であるにもかかわらず、多岐にわたる強力な生理活性を示す。しかし、天然から得られるサンプルが極微量であるため活性発現機構や標的タンパク質との分子認識に関する詳細な研究は立ち遅れている。梯子状ポリエーテル化合物は、当初、食中毒の原因物質として発見され、その後、単細胞藻類の代謝産物として分離・同定された生物活性天然物である。この種の化合物の大部分は強力な毒性を有しており、その発現機構に興味を持たれているが詳細は不明である。作用標的分子に関しては、プレベトキシン類、シガトキシン類が電位依存性ナトリウムチャンネルに結合することが知られているのみであり、他のポリエーテルについては依然として未解明なままである。これら天然物の類縁体である pyrenulic acid はベトナム産地衣類由来の子囊菌 <i>Pyrenula</i> 属から単離された細胞毒性ポリケチドであり、縮合環状ポリエーテル構造を特徴とする。ゲノムシーケンス、<i>in silico</i> 解析、および RT-PCR により、pyrenulic acid (<i>pya</i>) 生合成遺伝子クラスターが同定された。<i>Aspergillus nidulans</i> を用いた異種宿主における各遺伝子発現による酵素機能解析に基づき、アルキル鎖末端のエポキシ化および水酸化をそれぞれ行う 2 つのシトクロム P450 PyaG および PyaJ、ならびにエポキシド開環 6-<i>endo</i> および 7-<i>endo</i> 環化反応を触媒することにより、6 および 7 員環縮合二環式ジエーテル骨格を構築する α/β 加水分解酵素 PyaF を発見した。Pyrenulic acid 形成の詳細なメカニズムを解明するため、PyaF を組換え酵素として獲得し、<i>in vitro</i> 実験を実施して、PyaF による環化反応メカニズムを解明した。さらに、機能が既知の α/β 加水分解酵素と PyaF のアラインメント解析、および詳細な量子力学計算を用いた環化反応経路の解析、および分子動力学シミュレーションと変異体酵素の解析により触媒活性アミノ酸残基は、Ser170、Asn342、Asp314、および His169 を活性アミノ酸残基として含む珍しい 4 アミノ酸残基システムであり、Tyr255 と His284 はエポキシドの開環を促進するための一般的な塩基として作用すると予測した。本研究によって縮合環状ポリエーテル構造の生成における酵素による <i>anti</i>-Baldwin エポキシド開環カスケードの位置選択性がどのように制御されるのかを世界で初めて明らかにした。