

ネギ属由来催涙因子合成酵素の反応機構の解明

Study on the reaction mechanism of lachrymatory factor synthases from *Allium* species

佐藤優太<sup>1</sup>, 山田千早<sup>1,2</sup>, 荒川孝俊<sup>1,2</sup>, 伏信進矢<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科、〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Yuta SATO<sup>1</sup>, Chihaya YAMADA<sup>1,2</sup>, Takatoshi ARAKAWA<sup>1</sup>, and Shinya FUSHINOBU<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

<sup>2</sup>Collaborative Research Institute for Innovative Microbiology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

タマネギを切ると涙が出る現象は以前から研究されてきたが、2002年にハウス食品の今井らにより、イソアリインの加水分解産物である不安定な化合物1-プロペンスルフェン酸(1-PSA)が約170アミノ酸の小さな蛋白質(催涙因子合成酵素/Lachrymatory Factor Synthase, LFS)により触媒されて催涙因子PTSOが生成することが明らかにされた(図1)[1]。その後、この研究は2013年にイグノーベル賞を受賞し注目を浴びた。我々は今井らのハウス食品の研究グループと共同研究を行い、タマネギ(*Allium cepa*)由来LFSの結晶構造を決定し、12種の化合物の阻害剤解析と23種類の変異体解析の結果と合わせて、2017年5月にプレプリントサーバーであるbioRxivに公開した[2]。LFSは植物ホルモン(アブシジン酸)の受容体等とよく似たヘリックス・グリップフォールドをとり、基質結合ポケットは溶媒から隔離されていた(図2)。ポケットの内壁の上下にあたる部分は疎水的だが、中央にあたる部分に親水性残基であるE88, Y114, Y102などが存在しており、これらの残基が反応に関与すると推定された。また以前の研究により分子内で[1,4]-シグマトロピー転位が起こるイソメラーゼ様の反応が起こることが予想されていたが[3]、LFSの基質結合ポケットの性質と変異体解析から、基本的にはそのような反応が起こると推定された。

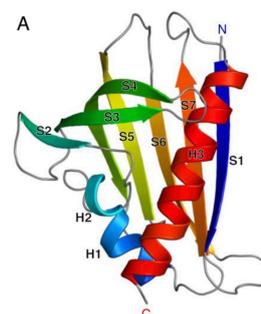


図2 : LFSの立体構造

2 実験

これまでLFSの立体構造はクライオプロテクタントであるグリセロールおよびエチレングリコールの結合した構造、およびアポ状態の構造が得られている。阻害剤であることが分かっているクロチルアルコールとの複合体結晶をソーキング法により調製した。

3 結果および考察

クロチルアルコールとの複合体構造を分解能1.8Åで決定することに成功した。(図3:黄色)。これまでに報告されていたLFSへのドッキングにより推定された構造(図3:水色)と異なり[4]、基質1-PSAが酵素に触媒されて転位反応が起こりうる状態に相当する向きで結合していた。



図1 : タマネギ(*Allium cepa*)のイソアリイン分解経路

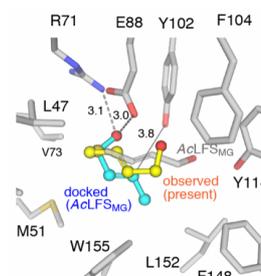


図3：LFSに結合したクロチルアルコール。我々が得た複合体構造を黄色で、以前にドッキングにより推定された構造を水色で表す。

#### 4 まとめ

LFSに結合した阻害剤（基質アナログ）であるクロチルアルコールの構造から、LFSの反応機構が明らかになった。変異体解析や計算科学的解析も合わせて、投稿論文はACS Catalysis誌に掲載された[5]。日本語総説も出版した[6]。

#### 謝辞

実験をサポートして下さったKEKおよびPFのみなさん、そして、ハウス食品の皆様、同専攻の生物情報工学研究室の皆様をはじめとする共同研究者のみなさんに感謝いたします。

#### 参考文献

- [1] Imai *et al.*, *Nature* **419**, 685 (2002)
- [2] Arakawa *et al.*, doi:10.1101/142687
- [3] Masamura *et al.*, *BBB* **76**, 447 (2012)
- [4] Silvaroli *et al.*, *ACS Chem. Biol.* **12**, 2296 (2017)
- [5] Arakawa *et al.*, *ACS Catalysis* **10**, 9-19 (2020)
- [6] 荒川 & 伏信. *月刊化学* **75**, 48-51 (2020)

\* asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp