

クラス 1B テルペン合成酵素の基質結合型構造 Ligand bound structure for Class 1B terpene synthase

藤橋雅宏*, 稲木隼人, 三木邦夫

京都大学大学院理学研究科

〒606-8501 京都市左京区北白川追分町

Masahiro FUJIHASHI*, Hayato INAGI, and Kunio MIKI

Department of Chemistry, Graduate School of Science, Kyoto University,

Sakyo-ku, Kyoto, 606-8501, Japan

1 はじめに

テルペンは自然界において様々な役割を果たす化合物群である。ほとんどのテルペンは炭素数 10-20 個のプレニルリン酸を起点に合成されるのに対し、本研究で対象とするクラス 1B 型テルペン合成酵素 BalTS は、炭素数 20~35 個のプレニルリン酸を基質とし、C₂₀~C₃₅テルペンの合成を触媒する酵素である。テルペン分子内の炭素数は、化学構造と機能の多様性に直結するが、C₃₅のように大型テルペンの研究例はほとんどない。また、BalTS は既知のテルペン合成酵素が持つ DXDD などのモチーフ構造も持たない。このため BalTS は新規の触媒機構を持つことが期待されている。これまでの研究により、BalTS の基質非結合型の結晶構造は、Photon Factory タンパク質結晶構造解析用ビームラインの全自動測定などを利用して、決定している [1]。

2 実験

BalTS の基質複合体の構造を探るために、本研究では C₂₀プレニルニリン酸のリン酸基に最も近い二重結合を飽和した(±)-geranylgeranyl diphosphate (GCPP)と、脱リン酸化した geranylgeraniol (GGOH) を基質アナログ化合物として用いた。GCPP との複合体結晶は共結晶化により、GGOH との結晶はソーキングにより得た。これらの結晶から、PF-NE3A での全自動測定も利用して、回折データを収集した。それぞれ、1.99 Å, 1.91 Å 分解能のデータを得た。

3 結果および考察

GCPP は BalTS 構造中のクレフト入り口付近に結合していた。この領域には 6 つの Asp 残基が存在する。これらの Asp 残基の Ala 置換体は活性を完全に失うこと [1]、Asn 置換体の活性も 1/20 程度になること [2]、BalTS の活性には Mg²⁺が必要なこと [1,2] などから、これら 6 つの Asp 残基は Mg²⁺を通して基質プレニルニリン酸のリン酸基を認識すると考えられる。

しかし、Asp 残基と GCPP リン酸基の間に、Mg²⁺に対応する電子密度は観察できなかった(図 1A)。考えられる理由の一つとして、用いた GCPP がラセミ体であるため、Mg²⁺は R 体と S 体のそれぞれに別の

位置で結合しており、このために電子密度の解釈が難しくなったことがあげられる [2]。

一方、GGOH はクレフトの奥深くに結合しており、その疎水性鎖の末端は、入り口からみてクレフトの反対側にまで貫通していた(図 1B) [2]。また BalTS-GCPP 複合体と BalTS-GGOH 複合体の重ね合わせから、C₃₀の基質結合モデルを構築することができた(図 1C) [2]。

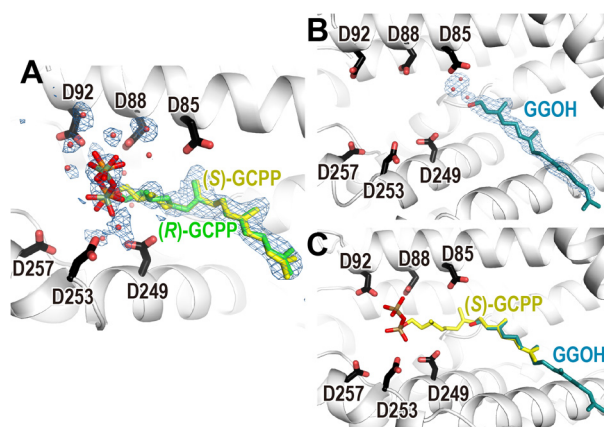


図 1: BalTS の基質複合体構造。A: (±)-GCPP 複合体。B: GGOH 複合体。C: (S)-GCPP と GGOH の重ね合わせにより構築した C₃₀ 基質結合モデル

謝辞

本研究は、共同研究者の新潟大学農学部の佐藤努博士と大阪市立大学理学部の品田哲朗博士、並びにそのグループメンバーと協力して進めました。また、データ取得の際にはビームラインスタッフの皆様が大変お世話になりました。深く感謝いたします。

参考文献

- [1] M. Fujihashi *et al.*, *Chem. Sci.* **9**, 3754 (2018).
[2] R. Stepanova *et al.*, *ACS Chem Biol*, **15**, 1517 (2020)
* mfuji@kuchem.kyoto-u.ac.jp