

## アサ由来テトラヒドロカンナビノール酸合成酵素の X 線結晶構造

正山 祥生<sup>1</sup>、玉田 太郎<sup>1</sup>、竹内 彩子<sup>2</sup>、田浦 太志<sup>2</sup>、  
安達 基泰<sup>1</sup>、正山 征洋<sup>2</sup>、森元 聡<sup>2</sup>、黒木 良太<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>原子力機構・量子ビーム、<sup>2</sup>九大院・薬)

テトラヒドロカンナビノール酸 ( $\Delta^1$ -Tetrahydrocannabinolic acid : THCA) 合成酵素は、大麻の幻覚活性を司る THCA の生産を制御する酵素であり、基質となる cannabigerolic acid を酸化的に閉環し THCA を合成する。THCA 合成酵素反応のメカニズムを解明するために、その立体構造解析を試みた。THCA 合成酵素は昆虫細胞を用いて分泌発現させ、調製した。この試料を用いて結晶化条件を検討したところ、タンパク質濃度 20 mg/mL、0.1 M HEPES 緩衝液 pH7.5、1.3 M クエン酸ナトリウム塩の条件で結晶化に成功した[1]。本結晶は空間群  $P432$  に属し、格子長  $a=b=c=179\text{\AA}$  であり、Photon Factory BL5A において  $2.65\text{\AA}$  分解能の回折データを得た。この回折データを用いて、アミノ酸配列に 23% の相同性を有す Glucosyltransferase (GOOX) の立体構造を探索モデルとして、分子置換法による解析を行い、得られた解を基に初期モデルを構築し、精密化を行った。最終的に立体構造モデルを R-factor 20.7% (R free 25.9%) まで精密化した。

THCA 合成酵素の立体構造は、大きく二つのドメインから構成されていた (図 1)。ドメイン-I にはそれぞれ 5 本及び 3 本の ストランドからなる逆平行 シート及び平行 シートが存在し、ドメイン-II には 8 本の ストランドからなる逆平行 シートが存在する。このシート構造を囲むように 14 本の ヘリックスが配置している。ドメイン間には補欠分子族である FAD が存在し、His-114、Cys-176 との 2 箇所において酵素と共有結合を形成していた。構造情報をもとに触媒残基の検討を行ったところ、FAD の近傍に存在する Tyr-484 が触媒作用を示すことを明らかにした。この結果から Tyr-484 と FAD がそれぞれプロトンとヒドリドを脱離し基質の酸化をするとともに、そこで起きる電子移動によって閉環反応が完了すると考察された。

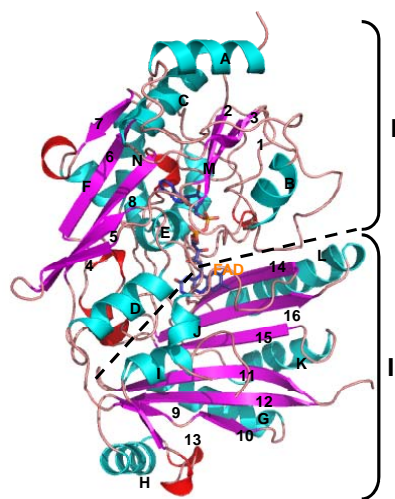


図 1 THCA 合成酵素の全体構造

[1] Shoyama, Y., Takeuchi, A., Taura, F., Tamada, T., Adachi, M., Kuroki, R., Shoyama, Y. and Morimoto, S. *Acta Crystallogr. B* **61**, 799-801. (2005)