

芳香環水酸化ジオキシゲナーゼの基質認識に重要なアミノ酸残基

○野口治子¹、宇佐美 祐亮¹、寺田 透²、山根 久和¹、野尻 秀昭¹
(¹東大生物工学セ、²理研・次世代計算科学・分子スケール)

芳香環水酸化ジオキシゲナーゼ (RO) は、基質の二水酸化を触媒する酸化酵素と電子伝達系から構成される。酸化酵素は基質結合ポケットの底部に活性中心の非ヘム鉄を含み、周囲の疎水性の壁が芳香環認識に重要な役割を果たしている。RO は難分解性汚染物質の分解浄化や、芳香属基質の部位・立体特異的水酸化を触媒するため、産業用酵素としても重要である。本研究では、RO の産業応用を目指して基質特異性の改変・改良に重要な基質結合ポケットを構成するアミノ酸の基質認識における役割の解明を試みた。

我々は carbazole 1,9a-dioxygenase (CARDO) を材料に、変異体の作成と機能解析・構造解析を行ってきた。一例を示すと、Gln282を Tyr に置換することで、carbazole から野生型とは異なる反応産物を生成する変異型 CARDO が得られた。このような基質特異性の変化は、基質結合部位側面の F275、最奥部の Q282、ポケット入り口側の I262 に変異を導入した際に観察され、これら3つのアミノ酸残基が基質認識において重要な役割を果たすことが明らかとなった。

本研究では、CARDO の基質結合ポケットの構造を、他の RO の基質ポケットの構造と比較し、RO に共通な基質結合に重要な空間的位置 (ポケット内における活性中心の鉄や酸素と基質酸化部位の位置関係や、基質を適正な位置に保つような壁の位置など) を考察した。本成果は、RO の反応性・基質特異性改変を考える上で、変異導入のターゲットを絞り込むために重要な情報を与えるものと考えられる。

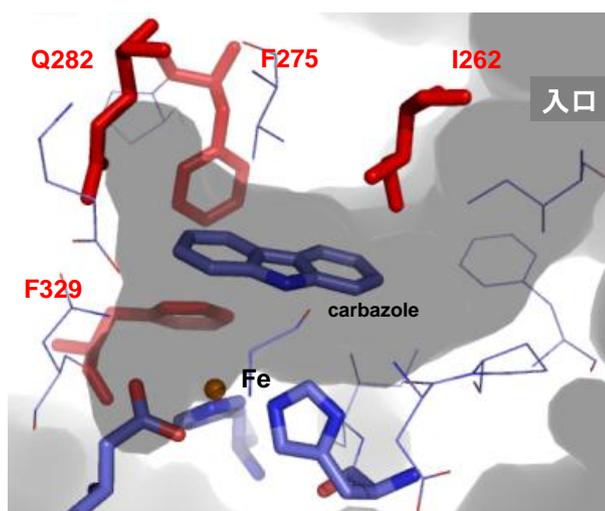


図. CARDO-O の基質結合ポケットの構造
基質 (carbazole) が結合している構造。I262, F275, Q282, F329 に変異を導入した。活性中心の鉄を球で示す。