

## イネ由来クルクミノイド合成酵素 CUS の X 線結晶構造解析

宮園健一<sup>1</sup>、Imai Fabiana Lica<sup>1</sup>、勝山陽平<sup>2</sup>、大西康夫<sup>2</sup>、堀之内末治<sup>2</sup>、  
田之倉優<sup>1</sup> (1. 東大院農生科・応生化、2. 東大院農生科・応生工)

クルクミノイドは、カレーなどのスパイスに用いられるウコンの主要な薬効成分であり、抗がん活性・抗酸化活性・肝機能活性化といった種々の生理活性を示す化合物として知られている。CUS は、イネゲノムから発見された III 型ポリケタイド合成酵素 (PKS) で、二段階の反応によりクルクミノイドを合成することができる。一段階目の反応では、スターター基質である p-coumaroyl-CoA と伸長鎖基質である malonyl-CoA の縮合を行い、ジケタイド CoA を生産する。二段階目の反応では、いったん CUS から解離したジケタイド CoA が、 $\beta$  ケト酸となった後、p-coumaroyl-CoA と縮合し、bisdemethoxycurcumin となる。この二段階目の反応は、III 型 PKS の中で極めて特殊な反応である。CUS の触媒する酵素反応の構造的な基盤を解明するため、CUS の立体構造解析を行った。

大腸菌のタンパク質発現系を用い CUS を大量調製し、結晶化実験を行ったところ、PEG4000 を沈殿剤とする条件で良質な結晶を得ることに成功した。得られた結晶を用い、放射光施設 Photon Factory AR-NW12 ビームラインにて X 線回折データの収集を行ったところ、最高 2.0 Å の分解能の X 線回折データを取得できた。得られた X 線回折データを用い、同じ III 型 PKS に属するカルコン合成酵素をモデルとした分子置換法により構造解析を行ったところ、CUS の構造決定に成功した ( $R/R_{\text{free}} = 18.8/22.4\%$ : 右図)。CUS の全体構造は一般的な III 型 PKS と類似していたが、活性部位を形成するポケットの構造が他と比較して広いことが明らかとなった。変異体解析の結果から、クルクミノイドの合成にはこの広いポケットの存在が必須であることが示唆され、活性ポケットの特徴的な構造が、CUS の触媒機構に大きく関与すると考えられた。

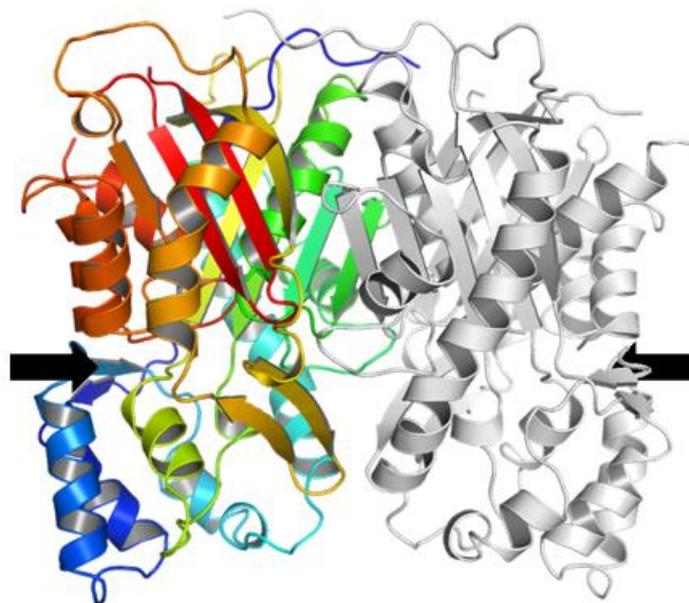


図 CUS の全体構造

CUS は二量体を形成  
活性ポケットを矢印で示す