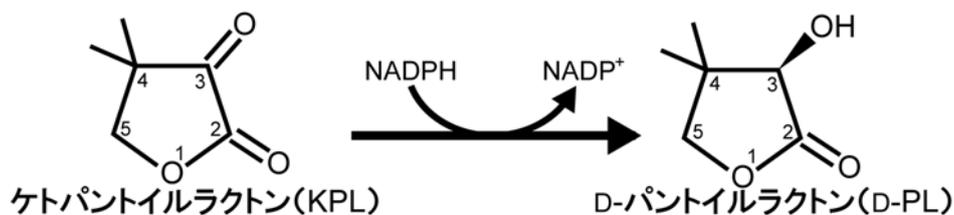


## D-パントイルラクトン合成酵素 CPR-C2 の X 線結晶構造解析

○山村 昭裕<sup>1</sup>、丸岡 慎太郎<sup>1</sup>、大塚 淳<sup>1</sup>、宮川 拓也<sup>1</sup>、永田 宏次<sup>1</sup>、  
片岡 道彦<sup>2</sup>、北村 苗穂子<sup>2</sup>、清水 昌<sup>2</sup>、田之倉 優<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東大院・農生科・応生化、<sup>2</sup>京大院・農・応生科)

【背景と目的】CPR (Conjugated polyketone reductase、共役ポリケトン還元酵素)-C2 は、*Candida parapsilosis* IFO 0708 に由来する AKR (Aldo-keto reductase) スーパーファミリータンパク質である。NADPH 依存的にケトパントイルラクトン (KPL) の 3 位のカルボニル酸素を不斉還元し、D-パントイルラクトン (D-PL) を生成する反応を触媒する酵素である。



D-PL は、医薬品、化粧品の原料や、食品・飼料添加物などとして広く用いられている D-パントテン酸 (ビタミン B5) の前駆体になるため、CPR-C2 の D-PL 工業生産への応用が期待されている。NADH を利用可能な酵素の方が工業利用に適しているが、CPR-C2 は NADH を補酵素としたときの活性が NADPH を補酵素としたときの 20 分の 1 にまで低下する。そこで本研究では CPR-C2 の X 線結晶構造解析を行い、NADPH を特異的に要求する機構、KPL を立体選択的に還元する機構を構造学的に解明することで、工業利用可能な NADH 依存性 D-PL 合成酵素改変体を創製するための基盤情報を得ることを目的とした。

【方法と結果】CPR-C2 の結晶化を NADPH 非存在下、存在下で行い、高エネルギー加速器研究機構 Photon Factory (PF) AR-NW12A、NE3A でそれぞれの回折強度データを取得した。分子置換法により apo 型、NADPH 結合型 CPR-C2 の立体構造をそれぞれ 1.70 Å、1.80 Å 分解能で決定した。CPR-C2 は他の AKR スーパーファミリータンパク質と同様に TIM バレル構造を有していた。apo 型、NADPH 結合型 CPR-C2 の立体構造比較より、CPR-C2 は NADPH 結合に伴い構造変化することを見出した。また、変異体解析、類縁酵素との立体構造比較より、NADPH を特異的に要求する機構、KPL を立体選択的に還元する機構を明らかにした。