

【タンパク質構造解析ユーザーグループ】

キラル化合物合成に有用な 2 種類の旧黄色酵素の結晶構造解析と基質特異性に関する構造基盤

○ 堀田 彰一郎¹、片岡 道彦²、北村 苗穂子²、宮川 拓也¹、大塚 淳¹、
永田 宏次¹、清水 昌¹、田之倉 優¹
(¹東大院・農生科・応生化、²京大院・農・応生科)

高光学純度のキラル化合物を効率的に調製する技術は、医薬品等の製造においてその重要性が増しており、高い立体選択性を持つ酵素触媒の利用にも期待が高まっている。清水らは、旧黄色酵素が炭素二重結合の不斉水素化を触媒することを発見した。2種類の旧黄色酵素 CYE (酵母 *Candida macedoniensis* 由来) と TYE (酵母 *Torulopsis* sp. 由来) は、この不斉水素化触媒能により、zeaxanthin 等のキラル合成中間体である(4*R*,6*R*)-actinol 生産に応用できる。原料基質である ketoisophorone (KIP) からの(4*R*,6*R*)-actinol 合成において、TYE が KIP と(4*S*)-phorenol (反応中間体) の両方を基質とするのに対して、CYE は主に KIP のみに作用することが明らかとなっている。CYE と TYE の基質特異性が異なる理由を明らかにするために、既に阻害剤との共結晶構造が解かれている旧黄色酵素とのアラインメントから、両結晶構造の基質結合モデルを構築した。その結果、基質結合ポケットの一部を構成している Phe 側鎖の位置が両酵素間で異なっており、CYE の基質結合ポケットが比較的小さいために、CYE は嵩高い化合物を基質にできないことが示唆された。この Phe を Ala、Gly に置換して基質結合ポケットを拡大した CYE 変異体を調製したところ、TYE 同様に(4*S*)-phorenol にもよく作用するようになり、立体構造に基づいた基質特異性の改変に成功した。