

## カルボニル還元酵素 S1 の基質認識機構の構造学的解析

○諏訪 陽一、片岡 道彦<sup>1</sup>、イマイ ファビアナ リカ、宮川 拓也、岡井 公彦、永田 宏次、清水 昌<sup>1</sup>、田之倉 優 (東大院農生科・応生化、<sup>1</sup>京大院農・応用生命)

近年、キラル化合物は薬剤合成の中間体として、その需要はますます高まっている。このため、立体選択性を高水準で保ち、高効率にキラル化合物を合成するための技術開発が行われてきた。Ethyl (S)-4-chloro-3-hydroxybutanoate [(S)-CHBE] は、高脂血症の治療薬である HMG-CoA 還元酵素 (コレステロール合成酵素) 阻害剤の合成中間体として有用なキラル化合物である。(S)-CHBE の化学合成は、立体選択性が乏しく光学分割が必要となるため、ethyl-4-chloro-3-oxobutanoate (COBE) を基質とするカルボニル還元酵素を用いた酵素合成が研究されてきた。カルボニル還元酵素 S1 は、*Candida magnoliae* から単離された酵素であり、99%以上の純度で COBE より (S)-CHBE を合成することができる。

本研究では、カルボニル還元酵素 S1 の立体構造を決定することにより、S 体選択的な反応機構を解明し、S 体選択性を保持したままでの高活性化や基質選択性の改変などに資する構造情報を取得することを目的としている。さらに、その情報に基づいて、産業利用に有用な S1 改変体の創出を目指している。本酵素の立体構造を決定するために、補酵素 NADPH との共結晶化を行い、Photon Factory AR-NW12A にて X 線回折データを取得した。*Candida Parapsilosis* 由来 カルボニル還元酵素 (PDB ID:3CTM) をテンプレートとした分子置換により、2.0 Å 分解能で構造解析に成功した。この NADPH との複合体構造に基づいて基質結合モデルを構築し、基質の S 体選択的な反応機構を推定することができた。COBE は、S1 により還元されるカルボニル基の両側の末端に、それぞれクロル基とエチル基をもつ。COBE のクロル基を S1 の Ser、Asn の極性残基が認識し、エチル基を Phe、Val、Ile、Trp の疎水性残基が認識することにより、S 体選択的に反応可能な配向で COBE が S1 の触媒部位に結合することが示唆された。また、S1 のクロル基認識残基を推定できたことは、今後、クロル基部分に他の置換基をもった基質に対しても S 体選択的に反応可能な酵素のデザインにつながるものと期待される。