

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

Structural basis for different substrate specificities between the two old yellow enzyme applicable for the synthesis of chiral compounds

○ 堀田 彰一郎¹、片岡 道彦^{2,3}、北村 苗穂子³、宮川 拓也¹、大塚 淳¹、
永田 宏次¹、清水 昌³、田之倉 優¹

(¹東大院農生科・応生化、²阪府大院生環科・応生科、
³京大院農・応用生命)

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。2 種の旧黄色酵素 CYE (*Candida* 由来) と TYE (*Torulopsis* 由来) は、炭素二重結合の不斉水素化触媒能により、医薬品合成中間体であるキサントフィル類の原料(4*R*,6*R*)-actinol の生産に利用できる。(4*R*,6*R*)-actinol 合成において、TYE が ketoisophorone (KIP) と中間体(4*S*)-phorenol 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。本研究では両酵素の基質特異性の違いをもたらす構造要因の特定を目的とした。その結果、NADP⁺(第一基質)または *p*-ヒドロキシベンズアルデヒド(阻害剤)共存下で得られた CYE の結晶構造(分解能 1.8 Å、1.8 Å)、NADP⁺(第一基質)またはメナジオン(第二基質の一種)共存下で得られた TYE の結晶構造(分解能 2.0 Å、2.6 Å)を決定し、CYE の KIP、(4*S*)-phorenol に対する基質結合モデルを構築した。その結果、活性部位近傍の Phe 側鎖の空間配置および活性部位に基質が結合した際に「ふた」として働くループが、(4*S*)-phorenol の認識に重要であることが示唆され、変異体解析により裏付けられた。また、CYE が(4*S*)-phorenol を基質とし得るような酵素改変に成功した。