

植物分子の機能と制御  
2020年度採択研究者

2020年度 年次報告書
-----------------

森 貴裕

東京大学 大学院薬学系研究科  
助教

植物生合成酵素の機能改変と物質生産系の確立

## § 1. 研究成果の概要

本研究では、植物二次代謝産物生合成の「解析、改変、利用」を目的とし、生合成鍵酵素や酵素メタボロンの立体構造解析と、構造を基盤とした酵素の人為的制御、高効率有用物質生産系の確立を試みる。

植物由来化合物の生合成基盤の解明を目的に複数の膜結合型 CYP450 の異種宿主における発現を試みた。膜貫通領域を異なる位置で切断した酵素に対して、可溶化促進タンパク質と融合したものを作製し、発現を行うことで融合酵素を可溶性画分に得た。今後は結晶化を行うに足る酵素量を得るため、さらなる N 末膜貫通領域切断の調整、変異体作製による収量向上を行う。

また、植物分子の生合成、代謝に関わる酵素複合体の構造解析として、植物内に多く見出される C-配糖化フラボノイド化合物の代謝に関わる脱配糖化酵素複合体の立体構造解析を行なった。クライオ電子顕微鏡解析および X 線結晶構造解析により酵素複合体の全体構造を明らかとし、酵素がヘテロ二量体を形成することによって活性部位が構築されることを見出した。さらに、活性部位残基に変異を導入した結果、金属を配位する残基やその近傍に位置している塩基性アミノ酸残基の変異体において顕著な活性の低下が見られた。これらの結果から、金属イオンに基質の糖部分が相互作用し、塩基性アミノ酸が酸-塩基触媒として働くことで C-C 結合の切断を行うと推測される。

さらに、コンビナトリアル生合成の効率化技術の確立を目的に、生合成経路をタンパク質で形成されたシェル内に内包させ、代謝反応効率を向上させる系の構築を行なった。シェル内へ取り込むための認識ペプチドと毒性タンパク質を融合させ、シェルタンパク質と共発現することで、毒性タンパク質がシェル内に取り込まれ、大腸菌に対する毒性が低減することを確認した。現在、ランダム認識ペプチド tag ライブラリーを作製し、大腸菌内でのスクリーニング条件の最適化を行っている。

### 【代表的な原著論文情報】

該当なし