

植物分子の機能と制御
2020年度採択研究代表者

2022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

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複合体の立体構造解析と、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ている。

本年度は、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、精製を行った。膜貫通領域を切断した酵素に対して大腸菌ペリプラズム移行シグナルペプチドなどを付加することで全長での発現を確認した。さらに、CYP450 酵素の共進化配列解析から、酵素構造の安定化に寄与しうるアミノ酸残基の検討をおこなった。解析によって示唆された酵素表面に位置するアミノ酸残基変異を導入した結果、発現量、安定性の向上が見とめられ変異体を見出した。現在、スケールを上げて精製と結晶化、活性評価を行なっているところである。

また、クルクミンのコンビナトリアル生合成系をモデルとして、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。昨年度までに取得したシェル内へ目的酵素を取り込むための変異認識ペプチドをクルクミノイド生合成酵素群に付加し、物質生産系の効率化を試みた。シェルの面を形成するタンパク質に存在する孔径のサイズ改変、酵素共基質の生合成遺伝子のシェルへの導入、シェル構造の改変により、クルクミノイド生産量が約 2.4 倍にまで上昇する条件を見出した。さらに、構築した発現系が他のポリケタイド合成系にも応用可能であることを確認するため、クルクミノイド合成酵素 CUS をナリングニンカルコンの生合成に関わる III 型 PKS、HsPKS1 に置き換え、物質生産を行った。クルクミノイド生合成で最適化した条件において、認識ペプチドなしの発現系と比較して、ナリングニンカルコンの生産量が 3.7 倍まで向上した。

【代表的な原著論文情報】

1. “Discovery of non-squalene triterpenes” *Nature* 606, 414-419 (2022)
2. “Structure-based redesign of Fe(II)/2-oxoglutarate-dependent oxygenase AndA to catalyze spiro-ring formation” *Chem. Commun.* 58, 5510-5513 (2022)