

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		植物由来新規ポリケタイド閉環酵素の探索と物質生産への応用			
研究テーマ (欧文) AZ		Discovery of novel plant-specific polyketide cyclases and their application to material production			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)モリタ	名)ヒロユキ	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	森田	洋行	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Morita	Hiroyuki	研究機関名	富山大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		富山大学和漢医薬学総合研究所・教授			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>医薬品としても重要な植物ポリケタイドの生合成において、閉環反応はその構造多様性を生み出す要因の一つである。この閉環反応を自由に制御することができれば、ポリケタイドの多様性を人為的に創出することが可能になる。既に著者らは、アサ由来オリベトール閉環酵素(OAC)が、植物や微生物に広く存在する DABB ファミリーに属する酵素であり、触媒残基として Tyr78 と His72 を利用すること、及び基質の認識と触媒には直接関わらないものの、His5 と Tyr27 が触媒残基と水素結合のネットワークを形成し、触媒残基の空間的保持に関与していることを明らかにしてきた。そこで、本研究において、遺伝子データバンクに登録されている配列について、この4つのアミノ酸をモチーフとして検索を行った。その結果、機能未知として報告された植物由来の AtHS1 や POP-3 及び POP-like タンパクがこのモチーフを有しながら、OAC の基質認識に関わるアミノ酸は他のアミノ酸で保存されていることが判明した。このことから、これらのタンパクは、OAC とは異なるポリケタイド CoA に対して基質特異性を示すポリケタイド閉環酵素であると想定された。これらのタンパクを利用することでさらなる新規化合物の創出が期待される。そこで、AtHS1 とキマメ由来 POP-3 の遺伝子を受託合成にて購入し、それらのタンパク質を大腸菌に異種発現させ、各種カラムを用いて精製した AtHS1 と POP-3 の酵素反応生成物について解析を行った。これらの酵素の基質となる直鎖状アシル-β-ポリケタイド CoA は、キダチアロエ由来Ⅲ型ポリケタイドであるオクタケタイド合成酵素 (OKS) に、脂肪族 CoA、または、芳香族 CoA をマロニル CoA とともに作用させることにより調整した。その結果、桂皮酸との直鎖状 β-ポリケタイド CoA を、キマメ由来 POP-3 に基質として作用させると、LC-MS 解析において、僅かながら未知の化合物を生産することが判明した。現在、本未知化合物の構造決定を行っているところである。一方、OAC に、ペンチル-β-ヘプタノイル CoA を基質として作用させると、新規アロエソンアナログを生産することを見いだした。アロエソンはキダチアロエなどが生産する抗炎症化合物である。このことから、OAC を用いて新たに創出した新規アロエソンアナログも抗炎症活性を示すことが大いに期待される。</p>					
キーワード FA	ポリケタイド	閉環酵素	酵素工学		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	該当ありません							
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}	該当ありません							
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

In the biosynthesis of the pharmaceutically important plant polyketides, cyclization reactions are one of the factors that generate its structural diversity. Therefore, if we control the cyclization reaction, we can increase the diversity of the polyketides. We have reported that olivetolic acid cyclase (OAC) from *Cannabis sativa* belongs to the DABB family widely presented in plants and microorganisms, and that the enzyme employs Tyr78 and His72 as the catalytic residues. Our crystal structure analysis has also revealed that His5 and Tyr27 form a hydrogen bond network with the catalytic residues and participate in the spatial retention of the catalyst residues. In this study, we searched for sequences registered in the DNA databank based on the four amino acids as a motif. As a result, we found that, despite the highly conservation of the four amino acids in functionally unidentified AtHS1, POP-3, and POP-like proteins from plants, amino acids involved in the substrate recognition in OAC were substituted with other amino acids in these proteins. These observations suggested that these proteins are polyketide cyclases that show substrate specificity different from OAC. Therefore, we obtained synthetic genes of AtHS1 and *Cajanus cajan* POP-3 (CcPOP-3), and analyzed the enzyme reaction products of heterologously expressed and purified AtHS1 and POP-3. Linear acyl- β -polyketide CoAs of the enzyme substrates were prepared by reacting aliphatic CoA or aromatic CoA with malonyl-CoA to octaketide synthetase (OKS), the type III polyketide synthase from *Aloe arborescens*. The LC-MS analyses revealed that CcPOP-3 produces a trace amount of an unknown compound, when linear β -polyketide CoA with cinnamic acid was utilized as a substrate. Further structure elucidation of the unknown compound is underway. On the other hand, we found that OAC has an ability to generate a novel aloeson analog, when pentyl- β -heptanoyl CoA was utilized as a substrate. Aloeson is an anti-inflammatory compound produced by *A. arborescens* etc. Therefore, it is greatly expected that the novel aloeson analog generated by OAC shows anti-inflammatory activity.