

(様式2)

学位論文の概要及び要旨

氏名 藤山 敬介 印

題 目 天然物の環状骨格の構築及び酸化的修飾に関わる酵素群の構造生物学的研究

自然界から発見される化合物(天然物)は様々な構造を有しており、基本骨格の立体構造や付加された置換基の位置と立体化学の違いによって異なる生理活性を示すことが知られている。天然物の多くは、炭素鎖の伸長、環化などにより分子骨格が構築され、酸化等によって分子骨格が修飾されることで生産される。そのため、天然物の生合成を担う酵素反応のメカニズムを理解できれば、天然物の新たな合成戦略の設計や非天然物の創出など、創薬につながる重要な基盤を生み出すことができる。本研究では、天然物の生合成に関する酵素の中でも、①天然物の環状骨格を構築する新規環化酵素と②植物性ステロイド化合物の生合成に関与する酸化修飾酵素を研究対象とし、構造生物学的な観点から酵素による天然物の生合成戦略を理解することを目的とした。

まず初めに、環状骨格を構築する新規酵素として立体選択的な分子内Diels-Alder (DA) 反応を触媒する酵素 (DAase) に注目した。糸状菌が生産する天然物の一部には共通してデカリン骨格を持つ化合物が見出されており、デカリン骨格はFsa2ファミリーと呼ばれる酵素群が触媒する分子内DA反応によって構築されることが2015年に報告された。しかし、Fsa2ファミリーによる立体選択的なデカリン骨格の構築機構については全く知見がなかった。そこで、Fsa2ファミリーによる立体選択的なデカリン骨格の構築メカニズムを明らかにするために、equisetinとその鏡像異性の関係にあるphomasetinのデカリン骨格を構築するFsa2とPhm7の結晶構造解析及び生化学的な解析を行った。その結果、Fsa2ファミリーは既報のDAaseにはない新規なフォールドを持つことを明らかにし、触媒部位を同定した。さらに分子動力学計算によって、直鎖状の基質がFsa2とPhm7に対して右巻き、もしくは左巻きに折りたたまれて結合することで、鏡像異性の関係にあるデカリン骨格が生み出されていることが明らかになった。

酸化修飾酵素に関しては、様々な生理活性を有する植物由来のステロイド化合物を生合成する酵素群に注目した。まず、植物ホルモンのブラシノステロイド (BR) の生合成の鍵酵素であるCYP90B1について研究した。BRは植物の伸長成長を促すステロイドホルモンとして知られているが、campesterol (CR) から(22*S*)-22OH CRへの変換を触媒するCYP90B1は、BR生合成で重要な鍵酵素として認識されていた。CYP90B1による位置・立体選択的な水酸化はBR生産量を制御する重要な反応であり、そのメカニズムの解明は植物の成長制御の理解に繋がる。そこで、CYP90B1の反応メカニズムを明らかにするために結晶構造解析を行った。その結果、CYP90B1に結合した基質はC22位のみが触媒部位であるヘム鉄に対して水酸化が可能な距離に配置されていることが明らかとなった。またドッキングシミュレーションから、CYP90B1が触媒する立体選択的な水酸化は、CRのC24位の

メチル基とヘムとの間に生じる立体障害が重要であることが明らかとなった。

次に、ジャガイモ毒solanineの生合成に関わる酵素16DOX-1についての研究を行った。16DOX-1は2-oxoglutarate依存性ジオキシゲナーゼに分類される酸化酵素であるが、spirosolane骨格からsolanidane骨格を構築する骨格構築酵素として単離された。この骨格構築反応は、基質であるsolamarineの16位水酸化に伴う自発的な環構造の再構築によるものと推定されていたが、実験的な証拠が乏しく、仮説が正しいか不明であった。本研究では、16DOX-1のホモログである16DOX-2と基質アナログであるtomatineを利用することで、仮説の検証を行った。tomatine結合型16DOX-2の結晶構造解析を行った結果、基質は16位のみが水酸化可能な位置に配置されており、仮説を裏付ける結果となった。この結果から、solanidane骨格の構築は16位の水酸化に伴う環の再構築であることが強く示唆された。

以上のように、本論文では天然物の環状分子骨格やその修飾が、骨格構築酵素や酸化修飾酵素による精密に制御された反応によって行われていることを分子レベルで明らかにした。生理活性物質の生産の鍵を握る酵素の理解は、天然物の新たな有機合成及び生合成をデザインする上で重要な基盤となる。本研究の成果によって、様々な疾病に対する新規医薬品の合成や食の安全を守る農薬、更にはバイオマスの増産によるエネルギー資源の生産を志向した薬剤等の開発につながることを期待される。