

研究課題 (テーマ)	加水分解反応「非」触媒型新規カルボキシエステラーゼの反応機構		
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	講師	野村 泰治
研究結果の概要			
<p>チューリップポシド類はチューリップの化学防御に関わる代表的な二次代謝産物である。貯蔵物質であるチューリップポシド類は、「チューリップポシド変換酵素」によって抗菌活性を有するラクトン化体であるチューリップパリン類へと変換される。これまでの我々の研究によって、チューリップポシド変換酵素にはチューリップポシド A をよい基質とする「チューリップポシド A 変換酵素」とチューリップポシド B をよい基質とする「チューリップポシド B 変換酵素」の 2 種類が存在することが明らかとなり、いずれの酵素も一次配列上はカルボキシエステラーゼファミリーに属することが分かっている。一般的なカルボキシエステラーゼはエステル加水分解反応を触媒するが、チューリップポシド変換酵素は、エステルであるチューリップポシド類の加水分解反応は一切触媒せず、分子内エステル転移反応によるラクトン形成のみを触媒する。本研究では、この非常にユニークな酵素の X 線結晶構造解析を行い、本酵素の反応機構を分子レベルで明らかにすることを目的とした。</p> <p>チューリップポシド A 変換酵素については、大腸菌を宿主として発現させた組換え酵素を、天然型酵素に近い形で高度に精製する方法を確立した。このものを用いて、市販のスクリーニングキットによる結晶化条件の一次スクリーニングを行った後、さらに条件を絞り込むことで、組換えチューリップポシド A 変換酵素の結晶化条件の最適化を試みた。チューリップポシド B 変換酵素についても、チューリップポシド A 変換酵素と同様の方法で、高度に精製された組換え酵素を大量調製することに成功した。</p>			
今後の展開			
<p>チューリップポシド A 変換酵素、チューリップポシド B 変換酵素のいずれについても、結晶化条件を最適化した後に、X 線回折実験を行う。基質との共結晶を用いた回折実験も併せて行っていく予定である。</p>			