

微細藻類由来 DHA 合成酵素の炭素鎖伸長反応の解析

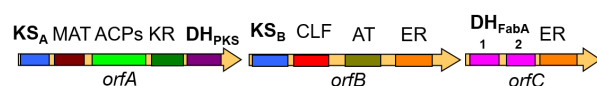
Dissecting Biosynthetic Machinery of Microalgal Polyunsaturated Fatty Acid Synthase

○仲間 陸¹、小林 飛悠¹、大塚 慎¹、佐藤 康治²、小笠原 泰志²、大利 徹² (¹北大院総化、²北大院工)

○Riku Nakama¹, Hiyu Kobayashi¹, Makoto Otsuka¹, Yasuharu Satoh², Yasushi Ogasawara², Tohru Daiiri² (¹Hokkaido Univ. Grad. Sch. Eng. Chem. Sci., ²Hokkaido Univ. Grad. Sch. Eng.)

ある種の海洋性微細藻類や細菌はポリケチド合成酵素様のマルチドメインから構成される巨大酵素複合体 (PUFA 合成酵素) によりドコサヘキサエン酸 (DHA; C22:6 ω3) やエイコサペンタエン酸 (EPA; C20:5 ω3) を特異的に生合成することが知られている。これら酵素は類似のドメイン構造を持つにも関わらず異なる PUFA を作り分けるが、その生合成機構は未解明であった。当研究室では、海洋性細菌由来 PUFA 合成酵素を用いた *in vivo*, *in vitro* 解析により、炭素鎖長制御及びシス二重結合導入機構を明らかにした¹⁻⁴⁾。しかし、海洋性細菌由来の酵素と相同性を有さない微細藻類由来の酵素については、生産物制御機構は不明であることから解明を試みた。本研究では、*Schizochytrium* sp. 由来の DHA 合成酵素遺伝子が大腸菌で発現させた *in vivo* 系と組換え酵素を用いた *in vitro* 系で制御機構を解析した。その結果、前者により、2 つのケトシンターゼ (KS) ドメインと FabA タイプのデヒドラターゼ (DH) ドメインが必須であること、また後者により、炭素鎖長 2 から 6 までの伸長反応に関与する KS ドメインと DH ドメインを明らかにしたので紹介したい。

Some marine bacteria and microalgae produce polyunsaturated fatty acids (PUFA) such as docosaheptaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic



DHA 生合成遺伝子 (*Schizochytrium* sp.)

acid (EPA) by PUFA synthases, which are fatty acid synthase-like enzyme complexes with multiple catalytic domains. Interestingly, individual PUFA synthase creates a specific PUFA, even though domain organization of PUFA synthases are similar to each other. Previously, we investigated PUFA synthases of marine bacteria and unveiled mechanisms to control carbon chain length and cis double bond position of the product.¹⁻⁴⁾ However, product profile elucidation of the microalgal DHA synthase are difficult due to low sequence similarity between bacteria and microalgae enzymes. Here, we investigated the product control mechanism of microalgae enzymes. *In vivo* experiments revealed that two ketosynthase (KS) domains and FabA-type dehydratase (DH_{FabA}) domains are essential for PUFA biosynthesis. We also performed *in vitro* experiments with truncated recombinant KS and DH domains to clarify early stage of PUFA biosynthesis.

1) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **58**, 2326 (2019). 2) *Angew. Chem. Int. Ed.*, **58**, 6605 (2019). 3) *ACS Chem. Biol.*, **14**, 2553 (2019). 4) *ACS Chem. Biol.*, **15**, 651 (2020)

fatty acid, ketosynthase, dehydratase

発表責任者：大利徹 (dairi@eng.hokudai.ac.jp)