

講演番号：3E2p11

講演日時：3月26日 16:00～ 1号館 E2 会場

タマネギ由来催涙因子合成酵素の触媒機構

Catalytic Mechanism of Onion Lachrymatory Factor Synthase

○佐藤 優太¹、荒川 孝俊^{1,2}、高辺 潤平¹、青柳 守紘³、加藤 雅博³、鴨井 享宏³、正村 典也³、柘植 信昭³、今井 真介³、伏信 進矢^{1,2} (¹東大院・農生科・応生工、²東大微生物連携機構、³ハウス食品・中央研究所)

○Yuta SATO¹, Takatoshi ARAKAWA^{1,2}, Jumpei TAKABE¹, Morihiko AOYAGI³, Masahiro KATO³, Takahiro KAMOI³, Noriya MASAMURA³, Nobuaki TSUGE³, Shinsuke IMAI³, Shinya FUSHINOBU^{1,2} (¹Dept. of Biotechnol., The Univ. of Tokyo, ²CRIIM, UTokyo, ³Central R&D. Inst., House Foods Group Inc.)

【背景】催涙因子合成酵素 LFS は、タマネギの催涙因子 *syn*-プロパンチアール *S*-オキシド(PTSO)を合成する反応を触媒する。タマネギの細胞に存在するシステイン誘導体イソアリインは、細胞が損傷を受けると 1-プロペンスルフェン酸(PSA)へと分解される。PSA は非酵素的に直ちに縮合する短命な化合物だが、LFS 存在下では一部が分子内水素転位により PTSO に変換され大気中へ飛散し催涙効果を発揮する。LFS は、スルフェン酸やチアール *S*-オキシドという珍しい含硫官能基の反応を触媒することでタマネギの硫黄代謝経路に関わる、興味深い酵素である。しかし、LFS は既知タンパク質と明確な相同性を持たず基質・生成物も不安定なため、その触媒機構は明らかになっていない。本研究では、結晶構造解析と構造情報を元にした機能解析を行い LFS 触媒機構の解明を目指した。

【方法】大腸菌で異種発現したタマネギ LFS を Ni アフィニティおよびゲル濾過カラムクロマトグラフィによって精製した。PSA のアナログ分子であるクロチルアルコールと精製 LFS を共結晶化し、X 線回折実験によって複合体構造を決定した。また、野生型と同様に発現・精製した変異体 LFS を用い、酵素反応によって生成する PTSO 量を HPLC で測定した。アラニン変異体の PTSO 合成量を野生型と比較することで触媒反応に重要な残基を特定し、さらに側鎖の似たアミノ酸への変異体と比較することで残基の役割を推定した。

【結果】1.8 Å の分解能で LFS とクロチルアルコールの複合体構造を決定した。LFS 分子中央にあるポケット内に、PTSO に似た配向をとったクロチルアルコールの電子密度が観測された。クロチルアルコールはグルタミン酸と 2 つのチロシンの側鎖によって安定化されており、特にグルタミン酸残基は水素が転位する炭素とも近い位置に存在していた。これらの残基のアラニン変異体は活性が 1%未満に低下し、触媒反応への大きな関与が示唆された。更なる変異体の活性測定により触媒反応における役割を推定し、「LFS はグルタミン酸とチロシン側鎖による水素結合で PSA の配向を PTSO に似たものに強く限定し、グルタミン酸側鎖を中継した水素転位を促すことで PTSO を合成する」という、触媒機構を提唱した。

【展望】ネギ属植物の硫黄代謝物は様々な生理活性を持つ。中には抗酸化作用などヒトの健康に役立つ活性もあり、近年注目を集めている。本研究により二次代謝初期におけるタマネギ硫黄化合物の挙動が明らかとなったことで、健康効果の期待される硫黄化合物について、より詳細な生成過程やヒトが摂取した際の動態の理解、潜在的な健康効果の最大化につながると考えられる。

Crystal structure, Organosulfur compound, Plant enzyme

発表責任者：佐藤優太 (sato-yuta463@g.ecc.u-tokyo.ac.jp)