

平成25年度 ほくぎん若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名		助成金額
森田 洋行	富山大学和漢医薬学総合研究所・教授		800,000円
研究課題名	植物ポリケタイド合成酵素へのアミノ酸欠損/導入変異による多環性化合物群の創出		
研究の概要	資源が枯渇しつつある今日にあって、天然資源から新規生理活性物質を見だし創薬シードとして提供していくことが困難になりつつある。一方、これまで我々は、医薬資源としても重要な植物ポリフェノールの基本骨格を構築するⅢ型ポリケタイド合成酵素(PKS)の酵素工学的検討が無限の骨格多様性を生み出すことを、Ⅲ型 PKS の基質構造にアレンジを加え、かつ、Ⅲ型 PKS の活性中心キャビティに置換変異を導入することにより、実証してきた(NPR 27, 809, 2010)。本研究では、想を新たに、Ⅲ型 PKS の活性中心キャビティに欠損/導入変異を行うことで、多環性新規化合物の創出を目指した。		
研究の成果	申請者らのこれまでの機能改変において特に知見が蓄積されているオクタケタイド合成酵素(OKS)について、活性中心キャビティ構成アミノ酸残基 T204, I205, I206 を単独または同時に欠損させた変異酵素をPCR法にて作成した。次に、これらの変異酵素を大腸菌に異種発現させ精製した後、桂皮酸 CoA とマロニル CoA を作用させ、その酵素反応生成物についてLC-MSを用いて解析を行った。その結果、T204、T204/I205、T204/I205/I206 変異酵素が、変異導入数の増加に依存して生成量を増大する未知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進めているところである。また、先行研究において機能改変に成功した OKS F66L/N222G 変異酵素の X 線結晶構造の取得にも成功し、本情報をもとに、さらなるアミノ酸欠損型 OKS 変異酵素の作成が進行中である。		
研究成果発表状況	1. 森田洋行、大瀧翔太、松井崇、阿部郁朗「芳香族ドデカケタイドを生産する機能改変型アロエ由来ポリケタイド合成酵素の結晶構造解析」 日本生薬学会第60回年会、2013年9月8日、ポスター発表 2. 松井崇、大瀧翔太、孫昊、阿部郁朗、森田洋行「芳香族ドデカケタイドを生産する機能改変型アロエ由来ポリケタイド合成酵素の X 線結晶構造解析」 日本薬学会第134回年会、2013年3月29日、ポスター発表		
経費の執行状況	区分	執行額(円)	備考
	設備備品	800, 000円	<内訳> 薬用冷蔵ショーケース 404,250円 PCR 装置 395,750円