



アルテミシジン生合成における新規スルホンアミド合成酵素の立体構造解析

森 貴裕

東京大学大学院薬学系研究科

キーワード：天然物生合成，酸化酵素

1. 背景と研究目的

線菌から単離されるアルテミシジン類は、スルホンアミド基を含有する数少ない天然物であり、抗菌活性、抗腫瘍活性を示す医薬品候補化合物である¹。アルテミシジン類の生合成経路は申請者の所属する研究室で明らかとされており、スルホンアミド基は、Cupin スーパーファミリーに属する酵素の SbzM によりシステインから合成される^{2,3}。SbzM は一次代謝経路における硫黄代謝に関わる cysteine dioxygenase (CDO) と相同性を示すにもかかわらず、SbzM は CDO で利用される鉄イオンではなく、ニッケルイオンを活性中心として利用し酵素反応を触媒することが判明している。SbzM の機能解析として、システインから Ni および酸素依存的に反応が進行することは確認しているが、その立体構造及び詳細な反応機構は明らかとなっていない。そこで本研究では、アルテミシジンの特徴的なスルホンアミド構造の合成に関わる酵素群 SbzM に着目し、XAFS による、活性部位での Ni の配位数、価数についての情報の取得を行う。すでに取得している酵素立体構造と合わせて SbzM の反応機構の提唱を行う。

2. 実験内容

異なる価数の Ni 標準溶液、Zn 標準溶液や SbzM 酵素を BL5S1 にて測定を行った。検出には蛍光法を用いた。SbzM 酵素溶液の濃度は 4 mM まで濃縮し、基質が結合していない apo 体の状態と 200 mM のシステインを添加したものを準備し、スペクトラムの違いを比較した。

3. 結果および考察

まず、Zn の検出を行うため、AmSbzM に対して Zn-K 吸収端付近での XAFS 測定を行った。その結果、9650 eV 付近で酵素内に保持されている Zn に起因するピークを確認した。この XANES 領域のシグナルは ZnSO₄ や ZnS のものとよく類似していた。次に、Ni の検出および価数の特定を行うため、AmSbzM に対して Ni-K 吸収端付近での XAFS 測定を行った結果、Ni に起因するピーク 8350 eV 付近で検出した。この XANES 領域のシグナルは標準資料中の Ni(II) のピークと類似していた。さらに、基質をタンパク質と混合したのちに再度測定を行ったところ、8335 eV 付近に基質なしでは見られないピークを検出し、それは Ni(III) の標品のシグナルと非常によく類似していた。このことから、基質添加前後、酵素反応中に Ni(II) が Ni(III) へと酸化される反応機構が示唆される。

4. 参考文献

1. Awakawa, T., *et al.*, *J Ind Microbiol Biotechnol*, **48**, (2021).
2. Hu, Z., *et al.*, *Nat Commun*, **10**, 184 (2019).
3. Barra, L., *et al.*, *Nature*, **600**, 754 (2021).