

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	I型ポリケチド合成酵素におけるケト合成酵素およびケト合成酵素様脱炭酸酵素の機能解析
Title(English)	
著者(和文)	千菅太一
Author(English)	Taichi Chisuga
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12165号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:江口 正,工藤 史貴,豊田 真司,後藤 敬,大森 建
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12165号, Conferred date:2022/9/22, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名	千管 太一	
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名
	主査	江口 正	教授	審査員	大森 建	教授
	審査員	工藤 史貴	准教授			
		豊田 真司	教授			
		後藤 敬	教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「I 型ポリケチド合成酵素におけるケト合成酵素およびケト合成酵素様脱炭酸酵素の機能解析」と題し、以下の 4 章から構成されている。

第 1 章「序論」では、I 型ポリケチド合成酵素 (PKS) 及びこれに属するモジュール型 PKS の概要を述べ、これに関わるポリケチド骨格形成反応を俯瞰している。その中でモジュールの順番制御を担い、かつ炭素-炭素結合形成反応を触媒する重要なドメインとしてケト合成酵素 (KS) ドメインに着目し、その機能について述べている。さらに KS ドメインの機能解明における課題として、モジュール順番制御に関わるタンパク質間相互作用の解析例が 1 例のみと限定的であること、さらに炭素-炭素結合を形成する脱炭酸を伴うクライゼン型縮合反応の機構が未解明であると述べている。

第 2 章「ケト合成酵素のモジュール間アシル基転移反応に関わるタンパク質間相互作用」では、抗生物質ピセニスタチンの生合成に関わるモジュール型 PKS の VinP1 モジュール 3 と VinP2 モジュール 4 間のアシル基転移反応を解析している。まず、アシル基転移反応に関わるタンパク質として VinP1 モジュール 3 の ACP (ACP₃) と C 末端ドッキングドメイン (CDD₃) 及び VinP2 モジュール 4 の N 末端ドッキングドメイン (NDD₄) と KS (KS₄) ドメインを調製し、ピセニスタチン生合成中における VinP2 KS₄ ドメインの基質を模したチグルル-VinP1 ACP₃CDD₃ から、VinP2 NDD₄KS₄ へのアシル基転移反応を検出できたことを述べている。この分析系を利用し、VinP1 ACP₃CDD₃ の CDD₃ を欠いたタンパク質や、ACP₃ 部分を他のモジュールの ACP と置き換えたタンパク質を用いた場合では、アシル基転移活性が低下することを明らかにしている。さらに、クロロアセチルパンテテインアミドを用いたクロスリンク反応を VinP2 NDD₄KS₄ と ACP 間で検討し、ACP やドッキングドメインの違いによるクロスリンク反応効率の差はアシル基転移反応の活性の差の傾向とほぼ一致することを明らかにしている。以上の結果より、モジュール間が別々のタンパク質に分離されている場合のモジュール間アシル基転移反応において、アシルキャリアタンパク質 (ACP)-KS ドメイン間とドッキングドメイン間の 2 つのタンパク質間相互作用が重要であると述べ、PKS においてこれらタンパク質間相互作用が一般にモジュール順番制御に関わることを提唱している。

第 3 章「ケト合成酵素様脱炭酸酵素の機能構造解析」では、ケト合成酵素様脱炭酸酵素 (KS_Q) ドメインの機能構造解析を行い、その基質認識機構を解明し、推定反応機構を提唱している。さらに KS ドメインの脱炭酸過程の機構は KS_Q ドメインと同様であると結論づけている。まず、推定基質が異なる 2 つの KS_Q ドメインのマロニル-、メチルマロニル-ACP_L に対する脱炭酸活性の比較から、KS_Q ドメインは一般に基質のマロン酸チオエステル α 位の置換基に対して寛容な基質認識を有することを明らかにしている。さらに、KS_Q ドメインと基質のマロン酸パンテテインチオエステル部分を模したニトロアセチルパンテテインアミドとの X 線結晶構造解析による複合体構造をもとに、基質のマロン酸チオエステル部分の基質認識には活性中心の 2 つのヒスチジン残基と 2 つのトレオニン残基が重要であることを明らかにしている。さらに、その結合様式から KS_Q ドメインは活性中心で、これらの残基により、基質を脱炭酸に適した配座とし、さらに反応中間体を安定化すると推定し、KS_Q ドメインの脱炭酸機構を提唱している。KS_Q ドメインと KS ドメインの活性中心の高い類似性からこれらは同一の機構で脱炭酸反応を触媒すると結論づけ、KS ドメインの脱炭酸反応はこれまでの推定と異なる新たな様式で触媒されると提唱している。さらに、基質の ACP_L 部分を他の ACP へと変えた場合の脱炭酸活性の比較から、KS_Q ドメインの基質の ACP_L 部分に対する認識が脱炭酸反応に重要であることを示し、KS_Q ドメイン-ACP_L クロスリンク複合体の X 線結晶構造解析により ACP_L 部分に対する認識機構を詳細に明らかにしている。

第 4 章「総括」では、本研究で得られた知見を総括するとともに、得られた知見のポリケチド合成酵素の機能解析・構造解析における意義を説いており、さらにモジュール型 PKS の触媒ドメインの機能解析を活かした新規ポリケチド化合物創生を指向した PKS エンジニアリングについて展望している。

以上要するに、本論文は VinP2 KS₄ ドメインの機能解析及び KS_Q ドメインの機能構造解析によって、I 型 PKS の KS ドメインのモジュール順番制御に関わるタンパク質間相互作用の重要性和、脱炭酸過程の反応機構を明らかにしたものである。これらの知見は、生物有機化学や天然物有機化学の分野において重要な知見であり、理学上の貢献は大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分に価値があるものと認められる。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。