

紅藻マギレソゾ (*Laurencia saitoi*) のプロモペルオキシダーゼのクローニングと性状解析

北海道大学大学院 環境科学院
環境起学専攻 環境適応科学コース
小林 大毅

【背景】紅藻ソゾ属 (*Laurencia*) は、600 以上の含ハロゲン化合物 (主に臭素) を産生することが知られている。なかでも、マギレソゾ (*L. saitoi*) は、ソゾ属では珍しい含臭素ジテルペノイドおよびトリテルペノイド類を産生する。このうち、含臭素トリテルペノイドである *thyriferyl 23-acetate* は抗がん剤への応用が期待されている。近年、このような有用天然物の合成・供給において、生合成酵素を用いた方法が注目されている。ソゾ由来含臭素化合物の生合成における鍵反応である臭素の導入過程は、バナジウム依存型プロモペルオキシダーゼ (VBPO) によって触媒されると推定されている。これまでに、 C_{15} アセトジェニンを産生するウラソゾ (*L. nipponica*) では、VBPO が同定され、推定生合成前駆体に対して臭素を導入することが示唆されている。

本研究では、マギレソゾ由来トリテルペノイドの臭素付加機構の解明のため、マギレソゾ VBPO のクローニングと組換えタンパク質の精製を行い、生化学的特性を明らかにした。

【実験方法】マギレソゾよりゲノム DNA を抽出し、*inverse* 法でマギレソゾ VBPO 遺伝子 (*LsVBPO*) をクローニングした。次に、大腸菌発現系にて調製した組換え *LsVBPO* タンパク質を、硫酸塩析および陰イオン交換クロマトグラフィーで精製した。また、得られた *LsVBPO* タンパク質の臭素付加活性をモノクロロジメドン (MCD) アッセイで評価した。

【結果・考察】*LsVBPO* と他の海藻由来 VBPO とのアラインメント解析の結果、活性中心のアミノ酸残基は良好に保存されていた。一方で、*LsVBPO* には、特徴的なグルタミンに富んだ配列が確認された。

組換え *LsVBPO* タンパク質の得られた酵素量は微量であった。MCD に対する臭素付加活性値は、pH 6.0 で 38 U/mg protein であり、ウラソゾ (270 U/mg protein) に比べ低かった。*LsVBPO* は、pH 8.0 で最大活性値を示し、他の海藻由来 VBPO (pH 6.0-7.0) とは異なる性状を示した。また、75 °C で 20 分インキュベートすることにより失活した。過酸化水素に対する K_m 値は、0.04 (± 0.00) mM であり、ウラソゾ VBPO と同様に過酸化水素に対して高い親和性を示した。

以上、本研究により、マギレソゾの生化学的特性を解析した結果、*LsVBPO* は、ウラソゾ VBPO に比べて MCD に対する活性が低く、至適 pH など異なる性質を示すことが確認された。マギレソゾの産生するトリテルペノイドの前駆体に対する臭素付加活性が高いかどうかを調べる必要があり、低ければその原因の解明が課題となる。