

TSUBAME 共同利用 令和3年度 学術利用 成果報告書

水圏動物が有する酵素の構造解析
Structural analysis of enzymes from aquatic animals
潮 秀樹
Hideki Ushio

東京大学大学院農学生命科学研究科
Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo
<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/index.html>

長鎖高価不飽和脂肪酸の生合成能が高いフトメリタヨコエビ (*Melita rylovae*) に着目し、トランスクリプトーム解析を行なった。トランスクリプトームから脂肪酸伸長酵素 *Elovl6* を同定し、演繹的にアミノ酸配列を得た。得られたアミノ酸配列をもとに立体構造予測を行った。予測された立体構造について Ramachandran plot の描画などによって検証した結果、活性部位を含む大部分は信頼度が高いことが示された。これを用いて分子動力学シミュレーションを行い、*M. rylovae* の *Elovl6* の基質特異性や温度依存性について検討している。

Transcriptomic analysis of *Melita rylovae* identified the expression of *Elovl6*. The amino acid sequence of *M. rylovae* *Elovl6* was determined by translation of the identified mRNA and used to predict its structure. The predicted structure was evaluated by the Ramachandran plot. The results showed that most of the predicted structure of the *M. rylovae* *Elovl6* including active site has high confidence. Molecular dynamics simulation by using the predicted structure has been running to investigate the specificity or temperature-dependent activity of the enzyme.

Keywords: aquatic bioscience, LC-PUFA, *Elovl*, amphipoda, crustacea

背景と目的

水圏動物の組織で発現する酵素には、水圏動物に特有なものや陸上動物よりも活性が高いものなどがある。これらの酵素の反応機序を明らかにすることによって、遺伝子工学的に活性の向上や基質特異性の改変が可能となり、様々な産業利用が拓かれる期待される。しかし、それらの詳細な反応機構については未解明な部分が多く、ゲノム編集による活性の向上や基質特異性の改変において大きな障壁となっている。本課題では、トランスクリプトーム解析で得た mRNA 配列から演繹的に推定したアミノ酸配列をもとに立体構造の予測および分子動力学シミュレーションを行い、水圏動物由来酵素の反応機構について明らかにする。

概要

本課題ではヨコエビ類を対象とし、長鎖高価不飽和脂肪酸 (long-chain polyunsaturated fatty acids, LC-PUFA) 伸長酵素 (elongation of very-long-chain fatty acids, *Elovl*) の発現についてトランスクリプトーム解析によって調べ、アミノ酸配列を演繹的に推定した。得られた *Elovl* のアミノ酸配列から立体構造の予測を

行った。

結果および考察

ヨコエビ類の数種について LC-PUFA 生合成能を比較した結果、フトメリタヨコエビ (*Melita rylovae*) が高い LC-PUFA 生合成能を有することが示唆された。そこで、*M. rylovae* の *Elovl6* について、立体構造予測を行なった (図 1)。Ramachandran plot の描画、及び立体構造既知のヒト由来 *ELOVL7* の立体構造との比較によって、予測構造の妥当性を検証した。その結果、概ね信頼度が高い立体構造が得られた。ただし、C 末端、N 末端の予測構造については信頼度が低かった。得られた立体構造をもとに、力場として charmm36m を用い、Gromacs による分子動力学シミュレーションを進めている。

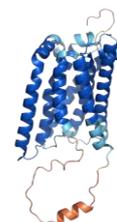


図 1 *Elovl6* の予測構造

まとめ、今後の課題

予測された Elov16 の立体構造は一部で信頼度が低かったが、活性部位を含む大部分では高い信頼度であった。今後は、*M. rylovae* の Elov16 の基質特異性や温度依存性について検討を行う。また、翻訳後修飾の有無などについても調べる必要がある。