

ゲノム情報を基盤としたアーキアにおける新規酵素の同定と利用

京都大学 大学院工学研究科 佐藤 喬章

【略歴】

- 2001年 3月 京都大学 工学部 工業化学科卒業
- 2003年 3月 京都大学 大学院工学研究科 合成・生物化学専攻 修士課程修了
- 2003年 4月 日本学術振興会特別研究員 (DC1)
- 2006年 3月 京都大学 大学院工学研究科 合成・生物化学専攻 博士後期課程修了 博士(工学)取得
- 2006年 4月 三共株式会社
- 2007年 4月 第一三共株式会社 (移籍)
- 2009年 10月 京都大学 大学院工学研究科 助教

アーキアの代謝について

アーキアとは真核生物や細菌とは異なる第三のドメインを構成する原核微生物群である。アーキアにおける代謝やそれに用いられる酵素は真核生物や細菌とは異なることも多い。例えば、一般的に真核生物や細菌は、核酸の前駆体である ribulose 5-phosphate (Ru5P)の生合成や、ヌクレオシドの分解をペントースリン酸経路により行っている。しかし、多くのアーキアはペントースリン酸経路を持たず、リブローズモノリン酸経路により Ru5P を生合成していることが分かっている¹⁾。一方、それらのアーキアにおけるヌクレオシド代謝については不明のままであった。

近年ゲノム解析が進むにつれアーキアを含め膨大な数のゲノムが解読されつつあるが、ある微生物のゲノム上で既知代謝経路を構成する遺伝子群の内、1 遺伝子だけ欠けている場合や(ミッシングリンク)、逆に 1 遺伝子だけが存在する場合(孤立遺伝子)がある。私は、ミッシングリンクや孤立遺伝子に着目しながら、アーキアにおける新規酵素の機能同定や利用を目指した研究を進めている。

アーキアにおける NMP 代謝経路とヌクレオシド代謝経路(ペントースビスリン酸経路)の同定

リブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) は一般的に植物・藻類や光合成細菌に分布し、光合成の暗反応を担うカルビン回路の鍵酵素として炭酸固定反応を触媒している(図1右下)。一方、ゲノム解析が進むにつれ Rubisco のホモログが超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* を含む幅広いアーキアにも分布することが分かってきた。また、その組換え型タンパク質は確かに Rubisco 活性を示すことも分かっていた。しかし、本菌を含め多くのアーキアにはカルビン回路がないことから Rubisco 遺伝子は孤立遺伝子となっており、その機能は不明であった。

そこでアーキアにおける Rubisco の機能同定を目指した。まず比較ゲノム解析により、Rubisco を有するアーキアに特異的に存在する 2 つの遺伝子を見出した。それらの組換え型タンパク質の生化学的解析により、これらが AMP ホスホリラーゼ (AMPpase) とリブローズ-1,5-ビスリン酸イソメラーゼ (R15P isomerase) という新規反応を触媒する新規酵素であることを明らかにした(図1黒矢印)。これにより、Rubisco はこれら 2 つの新規酵素と共に AMP を

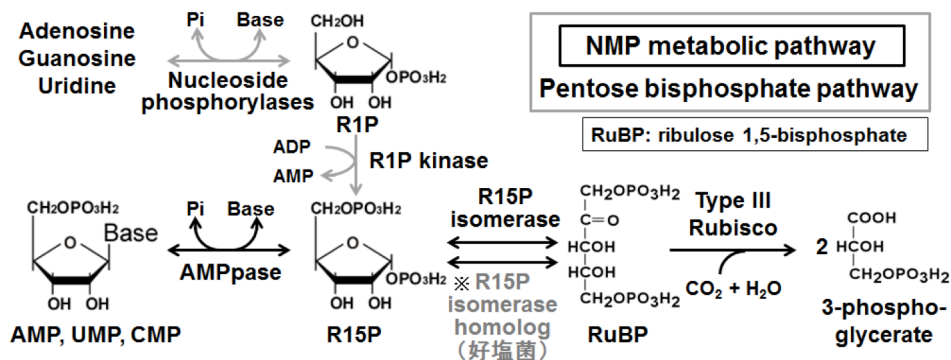


図1. アーキアにおけるNMP代謝経路とペントースビスリン酸経路

中央糖代謝産物である 3-phosphoglycerate へと代謝する新規核酸代謝経路を形成していることを明らかにした²⁾。また、AMPase の生化学的解析を進め、本代謝経路は AMP のみならず CMP や UMP も基質とする NMP 代謝経路であることを明らかにした。

また、ヌクレオシドの adenosine・uridine・guanosine の各々を ribose 1-phosphate (R1P) に変換する 3 つのホスホリラーゼを同定した。さらに、それらの反応産物である R1P を R15P isomerase の基質 ribose 1,5-bisphosphate へと変換する、新規 ADP 依存性リボース-1-リン酸キナーゼを同定した (図 1 灰色矢印)³⁾。少なくとも一部のアーキアは、これらの酵素と NMP 代謝経路が構成する代謝系によりヌクレオシドを中央糖代謝産物もしくは NMP に導くと考えられる。ペントースに 2 つリン酸が付いた中間産物を介して代謝が進むことから、本経路をペントース“ビス”リン酸経路と命名した。

アーキアにおける新規セリンキナーゼと新規 cysteine 生合成経路の同定

ゲノム解析の情報からは *T. kodakarensis* における cysteine 生合成経路は完全には予測できなかった。本研究により、chromosome partitioning protein ParB と annotate されていたタンパク質が実は ADP

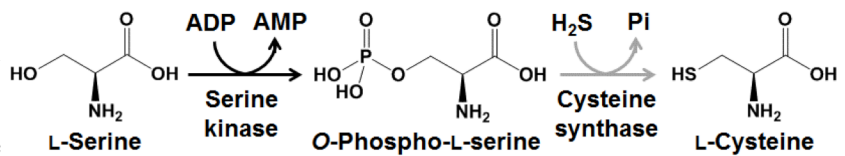


図2. 新規ADP依存性セリンキナーゼと新規Cys生合成経路

をリン酸基供与体とし遊離の serine をリン酸化するセリンキナーゼであることを同定した (図 2)。また本酵素は、図 2 に示したような新規 cysteine 生合成経路を構成することも明らかにした⁴⁾。

超好熱性アーキアを用いたイソプレノイド型炭化水素の生産

アーキア膜脂質の疎水尾部は、脂肪酸由来炭化水素ではなく、枝分かれ構造を有するイソプレノイドから構成される。本研究では、好熱性アーキア *Sulfolobus acidocaldarius* 由来のスクアレン/ファイトエンシンターゼと推定されているが真の機能は不明であった Saci_1734 遺伝子を *T. kodakarensis* に導入した。その結果、抗酸化能を有し、バイオ燃料となる可能性も持つ炭化水素 phytoene (図 3) の生産に成功した⁵⁾。本研究によりアーキアの物質生産宿主としての可能性も示唆された。

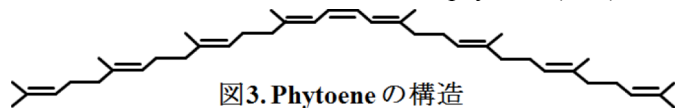


図3. Phytoene の構造

今後の展望

現在は、好塩性アーキアにおいて孤立遺伝子となっている R15P isomerase ホモログ (図 1※印) が形成する代謝経路の同定を進めている。また、ADP 依存性セリンキナーゼと相同性を示す遺伝子はアーキアのみならず細菌にも広く分布しているため、それらの網羅的機能解明も目指している。

謝辞

最後に、本研究を進めるに当たりご指導・ご鞭撻を賜りました、跡見晴幸教授、今中忠行教授、福居俊昭教授に厚く御礼申し上げます。また、様々なご助言・ご助力を頂いた京都大学 大学院工学研究科の今中研究室および跡見研究室のメンバーの皆様にも感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Orita, I., Sato, T., Yurimoto, H., Kato, N., Atomi, H., Imanaka, T., Sakai, Y. *J. Bacteriol.*, 188, 4698 (2006)
- 2) Sato, T., Atomi, H., Imanaka, T. *Science*, 315, 1003 (2007)
- 3) Aono, R., Sato, T., Imanaka, T., Atomi, H. *Nat. Chem. Biol.*, 11, 355 (2015)
- 4) Makino, Y., Sato, T., Kawamura, H., Hachisuka, S. I., Takeno, R., Imanaka, T., Atomi, H. *Nat. Commun.*, 7, 13446 (2016)
- 5) Fuke, T., Sato, T., Jha, S., Tansengco, M. L., Atomi, H. *Extremophiles*, 22, 301 (2018)