タンパク質間相互作用を介したCoA転移酵素の新規調節機構の解明

東京大学大学院 農学生命科学研究科　吉田　彩子

【略歴】

2006年3月　東京大学農学部応用生命科学課程 卒業
2011年3月　東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻 博士課程修了、博士（農学）取得
2011年4月　日本学術振興会特別研究員（PD）
2012年4月　東京大学生物生産工学研究センター 特任助教
2017年4月　日本学術振興会特別研究員（RPD）
2020年4月　東京大学生物生産工学研究センター 特任助教
2020年10月　東京大学生物生産工学研究センター 助教
2021年4月　東京大学大学院農学生命科学研究科附属アグロバイオテクノロジー研究センター 助教（改組のため）

はじめに

補酵素A（CoA）は、生体に極めて重要な補酵素の一つであり、その誘導体であるアシルCoAは脂肪酸代謝や、アミノ酸などの生合成においてビルディングブロックとして利用されるなど、様々な生体内の代謝反応に関わる。ヒト腸管において微生物によって作られる短鎖脂肪酸とヒトの健康との関連（脳腸相関）が話題となっており、微生物における（短鎖）脂肪酸代謝は特に注目を集めている。アシルCoA生成反応やその調節機構の解明は、脂肪酸などの重要な生体代謝反応の理解につながると期待される。我々は高度好熱菌*Thermus thermophilus*において、短鎖脂肪酸及び短鎖アシルCoA代謝に関わるCoA転移酵素（CoAT）が制御タンパク質とのタンパク質間相互作用とアセチル化修飾というこれまでに予想していなかった活性調節機構によって制御される可能性を見出している。近年注目を集める（短鎖）脂肪酸代謝とCoATの制御機構の関連に興味を持って研究を進めている。

*T. thermophilus*において高度にアセチル化されるCoAT

アセチローム解析と呼ばれるプロテオーム解析により、バクテリアを含む多くの生物で網羅的にアセチル化タンパク質が同定されている。その結果、タンパク質アセチル化修飾は多くの代謝酵素に存在することから、代謝調節との関連が示唆されている一方で、個々の修飾タンパク質におけるアセチル化機構やアセチル化による活性調節機構が明らかになっている例は限られている。我々は、高度好熱菌*T. thermophilus*を対象にタンパク質アセチル化酵素（KAT）依存的にアセチル化されるタンパク質を探索し、本菌で高度にアセチル化されるタンパク質としてCoA転移酵素（CoAT）を見出した（図1）。さらに、CoATを特異的にアセチル化するKATと脱アセチル化する酵素（KDAC）を同定し、CoATのアセチル化が生物システムとして制御されていることを明らかにしている。CoATは酪酸やプロピオン酸などの短鎖脂肪酸に、アセチルCoAのCoA基を転移し、短鎖アシルCoAを生成する反応を可逆的に触媒する活性を持つ。バクテリアにおいて、CoATと同じくアシルCoA合成に関わるアセチルCoA合成酵素（ACS）がタンパク質アセチル化によって活性調節されアセチルCoA合成量を調節することが知られていることから、CoATもまたアセチル化によって活性調節を受けアシルCoA合成量の調節に関わると予想された。しかしながら、アセチル化によるCoAT活性や基質特異性の変化は見られなかった。

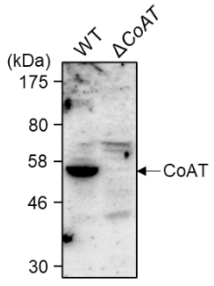

図1. 抗アセチルリジン抗体を用いたウェスタンブロッティング

CoAT の活性制御タンパク質 ADLP の発見

続いて、CoAT の高発現株を利用した pull-down assay により、CoAT はアラニン脱水素酵素とアノテーションされるタンパク質と相互作用することを見出した。*T. thermophilus* にはアラニン脱水素酵素ホモログが 2 つ存在し、興味深いことに CoAT と相互作用するアラニン脱水素酵素ホモログは酵素活性を持たない pseudoenzyme であったことから、ADLP（Alanine Dehydrogenase-Like Protein）と名付けた。ADLP は触媒残基が置換されていることで酵素活性を発現できないと考えられる一方、補酵素である NAD(H)の結合モチーフは保持していることから、ADLP が NAD(H)を結合し、CoAT の制御タンパク質として働く可能性が考えられた。実際、CoAT 活性が ADLP と NAD^+の共存下で阻害されること、及び NAD^+の代わりに NADH を添加した場合には、CoAT 活性に全く影響を与えないことを示している。このことから、ADLP が細胞内の NAD^+/NADH 比として現れる酸化還元状態のセンサーとしての機能を持ち、それに応答して CoAT 活性を調節する制御タンパク質として働いている可能性が考えられた。

CoAT はタンパク質間相互作用と翻訳後修飾により複雑に制御を受ける

前述のとおり、CoAT の KAT によるリジンアセチル化修飾は、CoAT 活性や基質特異性には影響を与えなかった。また、CoAT のアセチル化修飾リジン残基は、他種で決定されている CoAT の構造情報から、活性中心とは離れた酵素表面部位に存在すると推察された。そこで、我々は CoAT のアセチル化が ADLP との相互作用や、相互作用を介した NAD(H)に対する応答を制御するのではないかと予想した。検討の結果、CoAT のアセチル化は ADLP との相互作用には影響しないが、ADLP･NAD^+による CoAT の活性低下が緩和することが示唆されている。以上から我々は CoAT の NAD(H)結合タンパク質と翻訳後修飾による複雑な活性調節モデル（図 2）は、細胞内の酸化還元状態やアセチル CoA といった細胞内の重要な代謝産物の濃度に応答した活性調節機構であると考えている。CoAT は短鎖脂肪酸とアシル CoA の変換に関わることや NAD^+/NADH 比のセンサーとしての機能を持つ ADLP が制御に関わることから、同じく（短鎖）脂肪酸の代謝経路で、反応過程で NADH を生産するβ酸化との関連も推測される。このことから CoAT の複雑な制御機構が *T. thermophilus* において脂肪酸代謝やエネルギー代謝の恒常性維持において働いていると考えている。

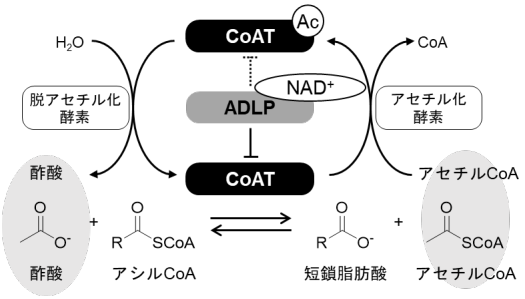

図2. CoATの活性制御モデル

今後の展望

本研究では、*T. thermophilus* 内で高度にアセチル化される CoAT が、ADLP という酵素活性は持たないが NAD(H)を結合する pseudoenzyme と相互作用して NAD^+依存的に活性阻害されることを見出した。またこの調節には CoAT のアセチル化も関与することも示唆されている。今後は CoAT のタンパク質間相互作用とアセチル化修飾を介した複雑でユニークな制御モデルを構造生物学的に解明するとともに、NAD^+/NADH 比センサーとして働くと考えられる ADLP を中心に解析を進めることで、この調節の生理的意義を明らかにしたいと考えている。またアシル CoA は様々な有用物質生産において重要な化合物であり、本研究により得られる CoAT の活性調節機構に関する知見はは、効率的な物質生産系の構築のための基礎となると考えている。

謝辞

本研究は東京大学生物生産工学研究センター（現東京大学大学院農学生命科学研究科附属アグロバイオテクノロジー研究センター）にて行われたもので、ご指導いただきました西山真教授をはじめとして研究遂行に関わっていただいた関係諸氏に心より感謝申し上げます。