



ホタルルシフェラーゼは、 本当に「光らせる触媒」か?!

加藤太一郎

初夏の夕暮れ、水辺に漂いはじめるホタルの光——。人々は昔からこの光に心奪われ、歌や文章に残してきた。日本最古といわれる歴史書『日本書紀』には、「邪気を払う正義の光輝くもの」と書かれている。時代が移り変わった現代に生きる我々も、ホタルの光を何か特別なものとして捉えているように思える。ただし、今は科学の進歩によって、ホタルルシフェラーゼという酵素タンパク質が、基質であるD-ルシフェリンを化学変換することで「光る」のだと分かっている。そして、この仕組みのさまざまな利用法も提案されている。たとえば、光ることを純粋に楽しむ玩具としての利用、反応時のATP要求性を利用したATPの高感度測定への応用、細胞内での遺伝子産物発現を非破壊で観察できるレポーター遺伝子としての利用などがある。

しかし、ホタルルシフェラーゼ本来の触媒活性は本当に「光る」ことなのだろうか? 「光る」という観察しやすい現象の裏側に、まったく違う触媒機構が隠れてはいないか? この仮説の現実性は、次に述べる事実によって、読者諸兄の納得をいただけるに違いない。

つまり、①ホタルルシフェラーゼは酸化酵素であるが、他の酸化酵素一般に見られるヘム鉄のような補因子を持っておらず、これらと相同性はまったくないこと、②一方で本酵素は、アシルアデニレート合成酵素スーパーファミリーに属する酵素と、アミノ酸の一次配列レベルだけでなく、立体構造レベルでもかなり似かよっていること²⁾、③本スーパーファミリーには4-クマル酸-CoA合成酵素や各種鎖長の脂肪酸-CoA合成酵素が含まれているが、酸化活性を示すのはホタルルシフェラーゼのみで、特例といえること、④これらの酵素では、まずカルボン酸が、 Mg^{2+} 存在下、ATPと反応してアシル-AMP中間体を形成し、これに補酵素A(CoASH)のようなチオールが攻撃することでチオエステルが生成されるが、ホタルルシフェラーゼでも、やはりまずD-ルシフェリンのカルボン酸部位がATPと反応してルシフェリル-AMP中間体を形成し、その後、本中間体に対して分子状酸素が攻撃、ジオキセタン構造を経由してオキシルルシフェリンが生成、発光すること。

この①~③の周辺事実と、④のように発光反応の際もアシル-AMP中間体を経由するということから、ホタルルシフェラーゼにも実はチオエステル化活性があるので

はないかと予想されていた。事実、この予想は正しく、デヒドロルシフェリンやL-ルシフェリンに対してチオエステル化活性があることが明らかになっている。ただし、D-ルシフェリンに対してはチオエステル化活性を示さない。基質の不斉点を正確に識別するのである。

これまで、本活性の存在意義は発光反応阻害の解除にあると考えられてきた。つまり、デヒドロルシフェリンやL-ルシフェリンは酵素活性部位に結合するため発光反応の強力な阻害剤として作用するが、これがチオエステル化されることで活性部位から排除され、発光活性を回復させるという役割である。

しかし最近、丹羽らはこれと正反対の存在意義を提案した³⁾。D-ルシフェリンに対する発光反応とL-ルシフェリンに対するチオエステル化反応の反応速度を測定し、チオエステル化反応のほうが発光反応よりも、明らかに基質の減少速度が速いことを見だし、この結果から、ホタルルシフェラーゼの本来の触媒活性は発光ではなくチオエステル化なのではないかという予想を示したのである。

また他の研究者によっても、本酵素が長鎖脂肪酸⁴⁾や2-アリールプロパン酸に対する立体選択的なチオエステル化反応⁵⁾を触媒できることが確認されている。

以上の事実は、ホタルルシフェラーゼの祖先タンパク質がある種のアシル-CoA合成酵素であったことを強く支持するものである。その昔、ルシフェリンの不斉点を見分けてL-体だけを基質としていた祖先タンパク質が、D-体の阻害を解除するために獲得した形質が酸化反応であり、その生成物が“たまたま”発光したというのが、生物発光の誕生した本当の理由なのかもしれない。「ホタルルシフェラーゼは発光反応を行う酵素である」という固定概念を一度解き放ち、「チオエステル化反応を行う酵素(かもしれない)」という立場から眺めてみると、これまで隠れていた新事実“光”を当てられるのではないだろうか。

- 1) 今井ら: バイオ・ケミルミネセンスハンドブック, 丸善 (2006).
- 2) 近江谷: 生化学, **76**, 5 (2004).
- 3) Nakamura, M. *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **331**, 471 (2005).
- 4) Oba, Y. *et al.*: *FEBS Lett.*, **540**, 251 (2003).
- 5) Kato, D. *et al.*: *FEBS J.*, **274**, 3877 (2007).