

cis型プレニルニリン酸合成酵素の構造と機能

広岡 和丈

cis型プレニルニリン酸は、炭素数5のイソプレン骨格が連なった炭化水素鎖の α 末端にニリン酸基が付加した化合物であり、 ω 末端側の二重結合の数個がtrans型で、残りの部分がcis型の構造となっている(図1)。原核生物が生産する主要なcis型プレニルニリン酸は、炭素数55のウンデカプレニルニリン酸(UPP)であり、真核生物はそれよりも長鎖のデヒドロドリキルニリン酸(炭素数85-110)を主に生成する。これらの化合物はともに α 末端の一リン酸基への修飾等を経て、細胞壁合成あるいはN-結合型オリゴ糖合成のための糖輸送脂質としての役割を果たす。このような糖鎖生合成における重要性にも関わらず、cis型プレニルニリン酸を合成する酵素の構造と機能については最近までほとんど知られていなかった。しかし、ここ数年になって酵素の遺伝子の単離が相次ぎ、機能と構造の解明が進展しつつある。

cis型プレニルニリン酸合成酵素は、trans型プレニルニリン酸を開始基質に用い、炭素数5のイソペンテニルニリン酸(IPP)を順次cis型に重合する反応を触媒する。この酵素活性については以前から動物、微生物などにおいて確認されていたが、酵素の遺伝子が単離されたのは、1998年のShimizuらによる報告が初めてである。¹⁾ 彼らは、遺伝子ライブラリーを保持する大腸菌のコロニーを、放射標識したIPPを含む反応溶液に浸潤させて菌体内で酵素反応を行うという巧妙な方法で、*Micrococcus luteus* B-P26由来UPP合成酵素の遺伝子の単離に成功した。一次配列の比較から、この酵素はそれまで知られていた類似の縮合反応を行うtrans型プレニルニリン酸合成酵素とはまったく相同性をもたないことがわかった。それ以降、大腸菌、酵母、シロイヌナズナなどからの同酵素遺伝子のクローニングが次々に行われ、いくつかの保存領域の存在が明らかとなった。²⁻⁴⁾

次いで、これらの保存領域の機能を探るために、保存領域内が置換された変異型酵素の解析が行われ、いくつかのアミノ酸残基がIPPと開始基質の2種類の基質の結合に重要であることがわかった。^{5,6)} 特に興味深いのは、trans型プレニルニリン酸合成酵素ではアスパラギン酸残基が Mg^{2+} イ

大阪大学大学院工学研究科応用生物工学専攻(研究員)

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1

Tel/Fax: 06-6879-7424

E-mail: hirooka@bio.eng.osaka-u.ac.jp

http://www.osaka-u.ac.jp

2000年 東北大学大学院工学研究科博士後期課程修了、

博士(工学)

現在の興味: cis型イソプレンポリマーである天然ゴムの生合成

オンを介して基質のニリン酸基に結合するのに対して、cis型プレニルニリン酸合成酵素では同様の Mg^{2+} イオンを介する結合に加えてアルギニン残基が基質のニリン酸基に直接イオン結合する点である。

2001年にFujihashiらによって*M. luteus* B-P26由来UPP合成酵素のX線結晶構造が決定された。⁷⁾ それ以前にSacchettiniとPoulterによって、trans型プレニルニリン酸合成酵素を含むイソプレノイド合成酵素は10から12個の α ヘリックスが逆平行にループでつながった共通構造、「イソプレノイド合成酵素フォールド」をとることが提唱されていたが、⁸⁾ UPP合成酵素はそれとは全く異なり、6個の β シートの中心を10個の α ヘリックスが取り囲む構造であった。最近、イソプレノイド生合成に関わる2種類の酵素、IPPイソメラーゼとジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼの立体構造が明らかとなったが、⁹⁾ これらの酵素はUPP合成酵素と同様に β シートの外側に α ヘリックスが配置された構造をしており、イソプレノイド合成酵素は α ヘリックスのみで構成されるタイプと、中心に β シートをもつタイプの2種類に分類できるのではないかと私は考えている。

2001年のFujihashiらの報告の後、Koらによって大腸菌のUPP合成酵素の結晶構造が決定され、この酵素が*M. luteus* B-P26の酵素とほぼ同じ構造であることが確かめられた。¹⁰⁾ 彼らはまた、変異型酵素の解析によって生成物を収容する疎水性トンネルの存在を示し、このトンネルの底にある嵩高いアミノ酸残基が生成物の ω 末端と作用して伸長反応を停止させるという鎖長制御モデルを提唱している。

以上述べてきたように、これまで知られていなかったcis型プレニルニリン酸合成酵素の構造と機能が明らかになりつつなる。これらの酵素の反応機構が詳細に解明されれば、原核生物のUPP合成酵素に特異的に作用して、かつ真核生物のデヒドロドリキルニリン酸合成酵素には活性を示さない阻害剤を開発して、新規抗生物質に応用できるかもしれない。

- 1) Shimizu, N. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **273**, 19476 (1998).
- 2) Apfel, C. M. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **181**, 483 (1999).
- 3) Sato, M. *et al.*: *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 471 (1999).
- 4) Oh, S. K. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **275**, 18482 (2000).
- 5) Pan, J.-J. *et al.*: *Biochemistry*, **39**, 13856 (2000).
- 6) Kharel, Y. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **276**, 28459 (2001).
- 7) Fujihashi, M. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 4337 (2001).
- 8) Sacchettini, J. C. *et al.*: *Science*, **277**, 1788 (1997).
- 9) Bonanno, J. B. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 12896 (2001).
- 10) Ko, T.-P. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, in press.

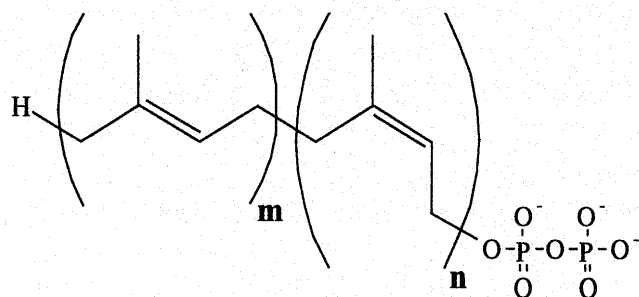


図1. cis型プレニルニリン酸の構造。合成する酵素の種類によってイソプレン単位数m, nは異なる。