

C-P 結合を切断する酵素

京都大学食糧科学研究所 福田民子, 村田幸作

炭素-リン酸結合 (C-P 結合) は、極めて強固な結合であり、化学的、熱化学的、あるいは、光化学的にこの結合を切断することは不可能に近い。酵素による切断が、現在期待できる唯一効果的な手段である。特に、C-P 化合物が除草剤、殺虫剤、あるいは、抗カビ剤などとして多量に自然界に散布されている現状、および、食物連鎖を通じてこれら C-P 化合物の生体への高濃度蓄積の懸念を考える時、微生物酵素による C-P 化合物の分解は重要な意味を持っている。このような環境論的観点より、そして、より純粋には酵素化学的、生化学的観点より C-P 結合開裂酵素の実体を明らかにしようとする試みがなされてきた。C-P 結合を有する化合物を唯一のリン酸源として生育する微生物の発見は、C-P 結合開裂酵素の存在を示唆する根拠となっていた。しかしながら、その酵素の実体を証明しようとする試みはすべて失敗に終始しており、最近のマサチューセッツ工科大学のグループ¹⁾による精緻を極めた実験にもかかわらず、C-P 結合開裂酵素はその活性のかげらすら検出されなかった。筆者らは、C-P 化合物を唯一のリン酸源として生育し、かつ、培地中に多量の無機リン酸を蓄積する 2 種類のバクテリア、*Bacillus brevis* と *Enterobacter aerogenes* をスクリーニングした。²⁾ *Enterobacter aerogenes* IFO 12010 は、種々の C-P 化合物 [methyl-phosphonic acid ($\text{CH}_3\text{-PO}_3^{2-}$), phenylphosphonic acid ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-PO}_3^{2-}$), phosphonoacetic acid ($\text{HOOC-CH}_2\text{-PO}_3^{2-}$)] を唯一のリン酸源として生育し、培地中に無機リン酸を蓄積する。しかも、本菌の無細胞抽出液は種々の C-P 化合物より無機リン酸を遊離する活性を示し、世界で初めて C-P 結合開裂酵素の無細胞系での証明に成功した。^{2,3)} C-P 化合物としては、上記のアルキルフォスホン酸以外に抗生物質である phosphonmycin ($\text{H}_3\text{C-CH-CH-CH}_2\text{-PO}_3^{2-}$) などの有する C-P 結合も切断される。³⁾

C-P 結合開裂酵素の実体を明らかにするため、*Enterobacter aerogenes* IFO 12010 株より本酵素の精製が試みられた。本酵素は、リン酸欠乏下で誘導合成される³⁾ ことより、Phosphate Starvation Inducible (PSI) regulon に含まれる遺伝子にコードされていると考えられる。栄養培地に生育した菌体を集・洗菌後、リン酸を含まない培地に懸濁し、2~3 時間 30°C でインキュベートすることにより、強い C-P 結合開裂酵素活性を有する菌体が得られる。この菌体の抽出液から C-P 結合開裂酵素が単離された。その結果、*Enterobacter aerogenes* IFO 12010 は C-P 結合開裂酵素活性の発現に 2 種類のタンパク質 (P_1 と P_2) の共存を必要とし、 P_1 は分子量 110,000 で分子量 55,000 のサブユニット 2 個より成り、 P_2 は分子量 560,000 で分子量 15000~25000 のサブユニット 6 個を単位とする重合体であると考えられた。タンパク質の巨大構造体は、タンパク質合成の場であるリボソームや RNA のスプライシングの場であるスプライソームなど極めて高度に秩序化された一連の反応を行う場合に要求されており、安定な C-P 結合の開裂に際しても、タンパク質上での C-P 結合の易動化 (不安定化) とそれに続く切断という一連の反応を行うために必要なのであろう。

このように、*Enterobacter aerogenes* IFO 12010 に初めて C-P 結合開裂酵素活性を検出し、しかも、この酵素は活性発現に特殊なタンパク質構造をとることが明らかになった。有機化学的にはほとんど不可能な C-P 結合の開裂が酵素化学的に進行するというこの事実は、酵素の“超化学的”な機能を物語るものであり、人知の及ばない化学反応がまだ残されていることを示唆している。先に述べたように、この酵素は種々の C-P 化合物の C-P 結合を開裂する。一方、C-P 結合の生成に関与する酵素が、ごく最近ハーバード大学の Knowles と東京大学の瀬戸らのグループ⁴⁾によって発見された。即ち、C-P 結合の生成と分解に関与する酵素が明らかになったことにより、今後 C-P 化合物の生化学が大きく進展する端緒が開けたといえる。C-P 結合開裂酵素に関する研究は、土壌におけるリン酸サイクル (難利用性リンの易利用性リンへの変換) の解析や、biomimetic model として、有機化学領域における C-P 結合性リンの化学の進展にも重要である。筆者はハーバード大学の Walsh らとの協同研究により、細菌の C-P 結合開裂酵素の遺伝子の全構造解析にほぼ成功している。

- 1) Wackett, L. P. et al.: *J. Bacteriol.*, **169**, 710 (1987).
- 2) Murata, K., Higaki, N., Kimura, A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **157**, 190 (1988).
- 3) Murata, K., Higaki, N., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1225 (1989).
- 4) Murata, K., Higaki, N., Kimura, A.: *J. Bacteriol.*, **171**, 4504 (1989).
- 5) Seidel, H. M. et al.: *Nature*, **335**, 457 (1988).