

か弱きものよ、汝の名は酵素なり

田村 隆

アンフィンゼンの実験は、生化学の教科において早い段階で学ぶ項目である。還元剤と尿素による処理で完全に変性したRNA分解酵素 (RNase) が、透析と酸化を段階的に受けると、その立体構造を完全に回復するという巧妙な実験である¹⁾。この研究で彼はノーベル化学賞を授与されるのであるが、「そんなシンプルな実験でノーベル賞とは、なんと幸運な」などと不遜な感想を抱く者は、筆者のみではないだろう。しかし、彼がその実験に行き着いたのは、自身が提唱した説を自分自身で否定するという長き葛藤の末であったことは、あまり知られていない。若きポストドクであった頃のアンフィンゼンは、尿素で処理したRNaseが活性を示したことに基づき、「酵素活性には、活性中心構造のみが必要で、タンパク質分子全体の立体構造は必要としない」という論文を発表した。以来、彼は自らの活性中心説を否定するために15年間の歳月を費やし、上記の実験に至ったのである。

現在では、あるアミノ酸配列は必ずしも1つの立体構造に収束しないことや、正しい立体構造の形成を介添えるシャペロニンと呼ばれるタンパク質群が存在することも知られている。また、RNaseのような頑強な酵素もあれば、変性・凝集しやすい酵素も多い。細胞内の酵素の一体どれだけがフォールディングに介助を要するのか？ 大腸菌の酵素についてシャペロニンへの依存性を網羅的に検討したKernerらは、それを必要としないクラス1、部分的に必要とするクラス2、そして絶対的に必要とするクラス3の3群に分類した²⁾。このクラス3は田口らによってさらに検証され、GroEL/ESの要求性が本当に高いクラス4が厳選された。クラス4に共通する立体構造として、TIM (Triose-phosphate Isomerase) バレル構造やチオラーゼ型フォールドを持つタンパク質群、PLP、FAD、NAD (P) などの補酵素を持つ代謝系酵素が多いことが判明した³⁾。

近年、コウジカビや放線菌、コリネバクテリアなど産業用微生物もゲノム情報解読の対象となっている。遺伝子工学的発想では、ゲノム情報に基づいて生合成酵素群をクローニングし、これらを強力なプロモーターで高発現させれば、目的とする代謝産物が飛躍的に増産されるはずであるが、なかなか期待通りの結果が得られない事がわかってきた。その原因は、プロモーターの動作不良なのか、宿主が提供できる一次代謝のフローが不十分な

のか、さまざまな考察と議論がなされている。しかし、高発現させた生合成酵素群の立体構造維持の必要性について考察した研究はまだ少ない。

じつは、クラス4の代謝系酵素の一つにグルタミン酸脱水素酵素が含まれている。微生物による「もの作り」の先駆的成功例であるアミノ酸発酵がGroEL/ES系シャペロニンによって支えられていたとすればおもしろい。また、抗生物質生産には巨大なタンパク質複合体が関わることが多く、その構造形成と維持にもシャペロニンが必要と考えられる。例えば6-デオキシエリスロライドBの生合成に関わるモジュールタンパク質は、 $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ の6つのサブユニットで構成される巨大酵素複合体であり、その総分子量は200万Daにも達する。本酵素を大腸菌で発現させる際に放線菌由来GroEL1、GroEL2を共発現させると、可溶性画分に得られる酵素量が2倍に増加し、精製した酵素の比活性も30%高いという報告がある⁴⁾。

放線菌を熱、pH、浸透圧などさまざまなストレスに晒すと抗生物質アクチノロージンの生産量が上がる報告も数多くなされてきた。とくに酸性ショックは*Streptomyces coelicolor*のアクチノロージン生産を向上させる効果が顕著で、その菌体内では*dnaK*、*dnaJ*などの遺伝子や*groEL1*、*groEL2*、*groES*遺伝子も高発現していることが報告されている⁵⁾。これらのタンパク質の品質管理に関わるタンパク質群が、抗生物質の生合成酵素そのものの品質管理をしているのか、あるいはエネルギーや生合成の基質を供給する一次代謝酵素のみを支えているのか、分子レベルでの詳細な仕組みはまだ不明である。

ゲノム情報をものづくりに展開するためには、生合成に直接関わる代謝系酵素の発現だけでなく、酵素の品質管理に関わるタンパク質群も重要との発想が今後、重要になると思われる。

- 1) Anfinsen, C. B. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1000**, 200 (1989).
- 2) Kerner, M. J. *et al.*: *Cell*, **122**, 209 (2005).
- 3) Fujiwara, K. *et al.*: *EMBO J.*, **29**, 1552 (2010).
- 4) Betancor, L. *et al.*: *ChemBioChem*, **9**, 2962 (2008).
- 5) Kim, Y. J. *et al.*: *BMC Genomics*, **9**, 604 (2008).