

インターフェイスから探る代謝機構のルーツ

跡見 晴幸

はじめに

超好熱菌は一般に至適生育温度が80°C以上の生物として定義されている。超好熱菌の大半はアーキアに属するが、一部バクテリアに属するものも知られている。超好熱菌はアーキア・バクテリアいずれのドメインにおいても系統学的な位置が根に近いところにあり、いわば、アーキアとバクテリアのインターフェイスに位置する。筆者らは超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* の代謝やその制御について研究を進め、その機構を大腸菌や酵母など、バクテリアや真核生物のモデル生物のものと比較してきた。本稿では補酵素 (coenzyme A) の生合成機構を中心に *T. kodakarensis* の代謝機構を超好熱性バクテリア *Thermotoga maritima* のものと比較し、それらの経路がどのような進化を遂げてきたのか考察してみたい。

T. kodakarensis と *T. maritima*

上述の通り、*T. kodakarensis* (Tko) はドメインアーキアに属し、*T. maritima* (Tma) はドメインバクテリアの一員である。双方ともに海洋性で、絶対従属性・絶対嫌気性の超好熱性微生物である。至適生育温度は、前者は85°C、後者は80°C程度である。また両者とも環状のゲノムを有し (Tko: 2,088,737 bp, Tma: 1,860,725 bp)、ゲノム上にはオペロンも存在する。遺伝情報の保存や伝達に関与するDNA複製、転写、翻訳系はアーキアとバクテリアとでは大きく異なっており、アーキアのものとは真核細胞のものと類似している場合が多い。たとえば *T. maritima* の転写装置はバクテリア型であり、シグマ因子に依存した転写開始複合体を形成するが、*T. kodakarensis* のRNA polymeraseは真核生物のものと類似した構造を示し、TATA-binding proteinやtranscription factor Bを利用して転写開始複合体を形成する。これらの生命機能に関しては、生育環境や生育温度域に関係なくドメイン間の違いが優先しているようである。

細胞膜

外界とのバイオインターフェイスを形成する超好熱菌の膜脂質構造は非常に興味深い。一般にバクテリア

は *sn*-glycerol 3-phosphate骨格に直鎖脂肪酸がエステル結合したものを利用している。アーキアは一般に *sn*-glycerol 1-phosphateを骨格として、脂肪酸ではなくイソプレノイドアルコールがエーテル結合したものを利用している。*T. kodakarensis* はアーキア型の膜脂質分子を利用し、他のアーキアと同様に膜を貫通するテトラエーテル型脂質も検出されている。一方、*T. maritima* においては一般的なエステル型膜脂質が主であるが、エーテル型脂質も利用されており、膜を貫通するテトラエーテル型のものもある¹⁾。しかしながら *T. maritima* のエーテル型脂質の疎水部はイソプレノイド型ではなくほぼ直鎖型であり、また *sn*-glycerol 3-phosphateを骨格としている。これらのことから、膜脂質骨格の立体構造やイソプレノイド鎖の利用はドメインにより異なることがわかる。*T. maritima* と同じ *Thermotogales* 目に属し、至適生育温度が65°C程度の *Thermosiphon* 属、*Fervidobacterium* 属のバクテリアはエーテル型脂質・テトラエーテル型脂質を有さない。したがってエーテル結合の利用はドメインを越えた高温領域生命適応戦略の一つである可能性もある。より多くの超好熱性バクテリアにおける膜脂質の構造に関する情報が待たれる。

Coenzyme A 生合成

Coenzyme A (CoA) はさまざまな異化代謝・生合成経路において重要な役割を果たす補酵素であり、すべての生物に利用されていると考えられている。CoAは末端チオール基を有し、これがさまざまなカルボニル化合物と高エネルギーチオエステル結合を形成することにより、カルボニル基の反応性を上げている。また2-オキソ酸の酸化脱炭酸反応において得られる酸とチオエステル結合を形成することにより、エネルギーを保存する重要な役割もある。解糖系とTCA回路をつなぐacetyl-CoA、TCA回路の代謝中間体のsuccinyl-CoA、脂肪酸生合成の前駆体であるmalonyl-CoAなどはよく知られている。

CoAは図1に示す構造をとっており、その骨格はpantothenate、ATP、cysteineに由来する。アーキアやバクテリアにおけるCoAの生合成は、valine生合成経路のketoisovalerateから出発し、8段階の酵素反応によって

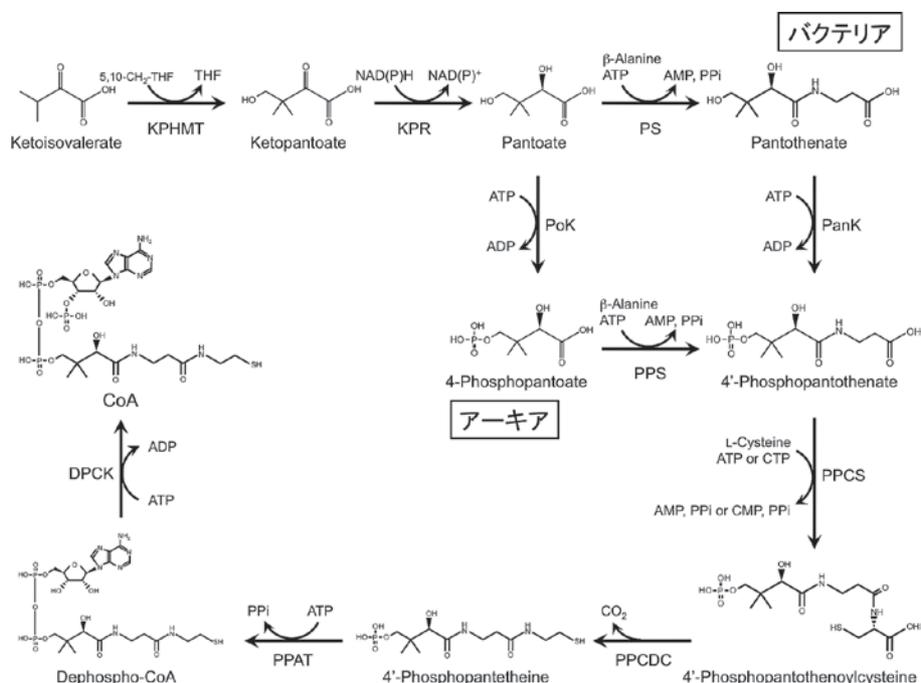


図1. アーキアとバクテリアにおける CoA 生合成経路. Pantoate から 4'-phosphopantothenate までの経路はアーキアとバクテリアで異なる. PPAT: phosphopantetheine adenylyltransferase, 他は文中に記載.

達成される (図1). 筆者らはいままでに *T. kodakarensis* における CoA 生合成機構のほぼ全容を解明してきた²⁻⁶⁾. 最終反応を触媒する dephospho-CoA kinase (DPCK) のみが未同定であるが, ketoisovalerate から dephospho-CoA までの変換に関わる 7 種の酵素遺伝子が明らかとなっている. それまでに明らかとなっていた *Escherichia coli* の CoA 生合成経路と比較するといくつかの特徴的な違いが見いだされた. まず, pantoate から 4'-phosphopantothenate までの変換経路が異なる点である. *E. coli* ではまず pantoate と β -alanine の縮合が起こり (pantothenate synthetase: PS), 続くリン酸化反応 (pantothenate kinase: PanK) により 4'-phosphopantothenate が得られる. 一方, *T. kodakarensis* においてはリン酸化が先に起こり (pantoate kinase: PoK), 続いて β -alanine との縮合反応 (phosphopantothenate synthetase: PPS) により 4'-phosphopantothenate が得られる (図1). ホモログの分布範囲より, バクテリアや真核生物の多くは *E. coli* に見られる経路を利用していることが示唆される. 一方, Thermoplasmatales に属するものを除けば, アーキアは *T. kodakarensis* に見られる経路を利用していると考えられる. もう一つの特徴的な違いは CoA 生合成の制御機構にある. *E. coli* 型の生合成経路を利用している生物 (バクテリア・真核生物) は CoA による PanK へのフィードバック阻害により過剰な CoA 生合成を防いでいる. 一方 PanK を利用しないアーキアにおいては, より上流の

ketopantoate reductase (KPR) がフィードバック阻害の標的となっている⁵⁾ (図1).

さらに, 筆者らは最近 *T. maritima* における CoA 生合成の制御機構に興味をもち, その解析を進めた. ホモログ検索の結果, *T. maritima* はほぼ *E. coli* 型の CoA 生合成経路を利用していると予想されたが, 不思議なことに CoA によるフィードバック阻害を受けないとされる Type III PanK のみを有していた. そのことから我々は *T. maritima* においては *T. kodakarensis* と同様な, KPR 反応を標的としたフィードバック機構があるのではないかと考えた. その予想は見事に外れたが, *T. maritima* の KPR, PS, PanK に対して詳細な生化学的解析を進めた結果, Type III であるにもかかわらず, PanK が CoA によるフィードバック阻害の標的となっていることがわかった⁷⁾.

T. kodakarensis および *T. maritima* の CoA 生合成経路を構成する酵素を比較すると非常に興味深い事実が浮かび上がってきた. つまり 8 種の反応を触媒する酵素のうち, 初発段階を触媒する酵素 ketopantoate hydroxymethyltransferase (KPHMT), 4'-phosphopantothenate と cysteine の縮合反応を触媒する phosphopantothenoylcysteine synthetase (PPCS), 続く脱炭酸反応を触媒する phosphopantothenoylcysteine decarboxylase (PPCDC) 以外は *T. kodakarensis* と *T. maritima* で機能する酵素が互いにホモログ関係にないことである.

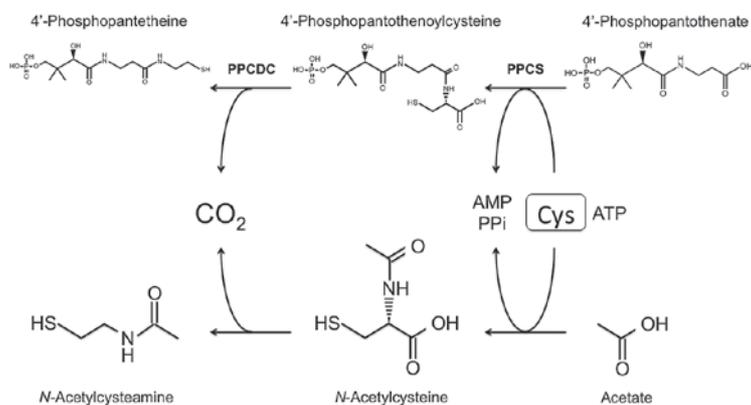


図2. Phosphopantothenoylcysteine synthetase (PPCS) と phosphopantothenoylcysteine decarboxylase (PPCDC) が触媒する反応。下段に 4'-phosphopantothenate を acetate に置き換えた場合の反応を示す。

比較する微生物の範囲を少し広げると(アーキア *Methanocaldococcus jannaschii*, バクテリア *Aquifex aeolicus* の CoA 生合成酵素を加えると), 同一 protein family のタンパク質が利用されている反応は PPCS, PPCDC のみとなる。これら二つの酵素タンパク質はバクテリア・アーキアのルーツから真核生物まで生物界に広く分布している。したがってアーキアにおける PoK/PPS 経路やバクテリアにおける PS/PanK 経路のように, PPCS, PPCDC 以外の酵素はバクテリア・アーキア・真核生物が分岐した後に誕生した可能性があり, 原始生命体における祖先的な経路は PPCS と PPCDC のみから構成されていたことも考えられる。

PPCS と PPCDC が CoA 生合成経路の原型である可能性が浮上してきたが, そもそも生合成経路の途中段階が最初に誕生する選択圧や意味はあるのかという疑問が生じる。しかしながら PPCS, PPCDC が触媒する反応をよくみると二つの反応がもつ本質的な意味が浮かび上がってくる。PPCS は図2に示すように 4'-phosphopantothenate のカルボキシ基と cysteine のアミノ基との間の縮合反応を触媒する。一方で PPCDC は PPCS 反応で生じた phosphopantothenoylcysteine の脱炭酸反応を触媒する。ここで得られる 4'-phosphopantetheine の構造を見ると, CoA の機能を果たすための基本的な構造的要素をすでに満足している。つまり末端チオール基をもち, カルボキシ基の接近を許容するために自身のカルボキシ基が除かれた構造をもつ。Cysteine と縮合するカルボキシ基供与体について, 4'-phosphopantetheine の生合成経路が誕生していない状況では, 酢酸など比較的単純なカルボン酸が利用されていた可能性がある。その場合に PPCDC, PPCS 反応によって得られる化合物は *N*-acetyl-2-aminoethanethiol (*N*-acetylcysteamine) と

なる。現存する CoA 分子と比べて酵素に特異的に認識されるための“飾り”は少ないが, CoA が担う代謝上の機能を十分に果たすことができる。証明は難しいが, *N*-acetylcysteamine あるいはそれと類似した化合物が祖先的な CoA 分子であったかどうか, 是非検証してみたい。

おわりに

本稿ではアーキア, バクテリアそれぞれのドメインにおいて系統学的に根に近い2種の微生物 *T. kodakarensis* および *T. maritima* について代謝機構を比較し, 共通点や相違点に基づいた進化的考察を行った。CoA 生合成経路についてはその原型となった経路や祖先的な CoA 分子を推測することができた。今後も各ドメインにおける代謝機構を比較し, 反応のみならず, それらを触媒する酵素のホモログ関係にも注目しながらさまざまな代謝機構の進化について検討していきたい。加速度的に蓄積される莫大なゲノム情報が大いに活かされるものと期待している。特に最近 Hug ら⁸⁾が発表した Candidate Phyla Radiation という一大生物群について, 代謝機能を検討すれば祖先的な経路の姿がより鮮明に見えてくる可能性もある。

文 献

- 1) Sinninghe Damsté, J. S. *et al.*: *Arch. Microbiol.*, **188**, 629 (2007).
- 2) Yokooji, Y. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **284**, 28137 (2009).
- 3) Tomita, H. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **194**, 5434 (2012).
- 4) Ishibashi, T. *et al.*: *Extremophiles*, **16**, 819 (2012).
- 5) Tomita, H. *et al.*: *Mol. Microbiol.*, **90**, 307 (2013).
- 6) Tomita, H. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **196**, 1222 (2014).
- 7) Shimosaka, T. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **198**, 1993 (2016).
- 8) Hug, L. A. *et al.*: *Nat. Microbiol.*, 16048, DOI: 10.1038/NMICROBIOL.2016.48 (2016).