

ATPを駆動力とした物質生産

鈴木 伸

アデノシン三リン酸 (adenosine triphosphate, ATP) はアデニン、リボース、3つのリン酸基から成り、末端に位置する2つのリン酸基はリン酸無水結合によりつながっている。これらの結合は加水分解されやすく、ATPからアデノシン二リン酸 (ADP) やアデノシン一リン酸 (AMP) への分解時に大きな負の自由エネルギー変化を生じるため、さまざまな反応の駆動力となりえる。また、より高エネルギーのリン酸化物からリン酸基を受け取ることでエネルギーの貯蔵も可能である。リン酸無水結合の解離と形成に伴い、容易にエネルギーをやり取りできることからATPは「エネルギーの通貨」とも呼ばれ、生命活動に不可欠な生体分子である。

ATPが関与する反応には、加水分解により供給されるエネルギーを利用した物質の能動輸送や筋収縮、タンパク質のリン酸化による調節やシグナル伝達、キナーゼ (EC 2.7) が触媒するリン酸基転移反応や、リガーゼ (EC 6) が触媒する縮合反応を利用した生体分子の生合成など、多岐にわたる。

生物工学の視点からは、特にATPのエネルギーを利用して基質を活性化し、他の分子との間に新たな結合を形成するリガーゼおよびその類似酵素に興味を持たれる。リガーゼは基質の活性化の機構によりADP生成型 (図1A) とAMP生成型 (図1B) の2種類に大別される。ADP生成型は基質をリン酸化により活性化してADPを生じ、続く反応にてリン酸 (Pi) を遊離する。AMP生成型は基質をアデニル化により活性化してピロリン酸 (PPi) を遊離し、続く反応にてAMPを生じる。両者ともに多種多様な酵素が知られているが、ここでは特に物質生産への応用例を紹介したい。

ADP生成型の酵素では、 γ -グルタミルシステイン合成酵素によるテアニン (茶葉の旨味成分) 合成¹⁾や、グルタチオン合成酵素によるグルタチオン (抗酸化物質) の合成があげられる。また、ペプチド性二次代謝産物の合

成に関わるL-アミノ酸リガーゼによる無保護のアミノ酸を基質とした多様なジペプチドやオリゴペプチドの合成も報告されている²⁾。AMP生成型の酵素では、アミノアシルtRNA合成酵素を用いたジペプチド合成やアシルCoA合成酵素とシステイン誘導体を用いたチオエステル中間体を經由したアミド合成反応³⁾などがあげられる。また、ペプチド系抗生物質の生合成に関与する非リボソーム型ペプチド合成酵素においてアミノ酸の活性化を担うアデニル化ドメインを単独で利用したアミド結合形成反応が開発されており⁴⁾、L-アミノ酸アミドやD-アミノ酸含有ジペプチドの合成が報告されている。リガーゼを用いた物質生産例は多数あり、ペプチドやアミドといった機能性化合物の合成法として期待されている。

リガーゼを利用した物質生産にはATPが必要となるが、ATPは高価であるため、多量の添加はコスト面から不可能である。そこで反応により生成するADPあるいはAMPからATPを再合成するATP再生系が数多く検討されてきた⁵⁾。その大部分はキナーゼの逆反応を利用して、高エネルギーのリン酸化物からのリン酸基転移によりATPを合成する。ADPからの再生では、解糖系におけるATP生成酵素でもあるピルビン酸キナーゼや、非常に安価なリン酸源であるポリリン酸を用いるclass I ポリリン酸キナーゼ2 (PPK2) がよく利用されている。一方、AMPからの再生では一度ADPを經由する必要があるが、煩雑なプロセスとなっていた。しかし、最近ポリリン酸からAMPおよびADPの両方にリン酸基転移が可能でclass III PPK2を用いたATP再生系が開発され⁶⁾、単一酵素でのシンプルな再生も可能となっている。ATPの供給技術も大きく進歩しており、多様な物質の生産プロセスに適用可能となるであろう。

リガーゼによる物質生産にキナーゼによるATP再生系を共役させることで、今後さまざまな有用物質が効率的に生産可能なバイオプロセスが構築できると期待される。

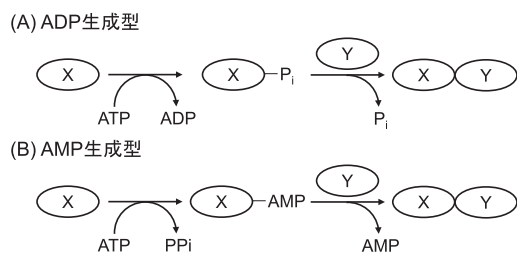


図1. リガーゼが触媒する反応の模式図

- 1) Miyake, K. and Kakita, S.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 2677 (2009).
- 2) Ogasawara, Y. and Dairi, T.: *Chem. Eur. J.*, **23**, 10714 (2017).
- 3) Abe, T. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **283**, 11312 (2008).
- 4) Hara, R. *et al.*: *Sci. Rep.*, **8**, 2950 (2018).
- 5) Andexer, J. N. and Richter, M.: *Chem. Bio. Chem.*, **16**, 380 (2015).
- 6) Suzuki, S. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **125**, 644 (2018).