

オーファン酵素を利用してバイオジェニック BTXをつくる

駒 大輔

過去に活性が確認されており、EC番号が付与されているにも関わらず、アミノ酸配列情報（または塩基配列情報）が不明な酵素がたくさん存在する。そのような酵素を入手するのは困難である。酵素データベース BRENDAを開き、EC番号などで検索して魅力的な酵素学的情報を得たとしても、配列情報が不明なために研究が手詰まりになることが多々ある。そのような酵素を「オーファン酵素」と呼ぶが¹⁾、Sustainable Development Goals (SDGs) の観点から、近年、非常にインパクトのあるオーファン酵素が解明されたので紹介させていただく。

ベンゼン、トルエン、キシレンの頭文字をとって BTX という（図1）。BTX はさまざまな芳香族誘導体を合成するための基幹化合物となるために、石油化学工業においてきわめて重要である。たとえば、PET ボトルはテレフタル酸とエチレングリコールを重合することで合成されるが、このうち、テレフタル酸は *p*-キシレンを酸化することにより得られる。一方、ベンゼンからはアニリンやスチレンなどが、トルエンからはフェノールなどが合成される。

BTX を生物学的に作り出すことはきわめて難しいように思われるが、実は30年も前にトルエンが嫌気的な条件下で生物的に生成されることが知られている。そしてフェニル酢酸をトルエンへと変換する菌株として、2種類の細菌 *Tolomonas auensis* および *Clostridium aerofoetidum* が自然界より単離されている。ただし、トルエンを生成するための酵素や遺伝子の同定には至っていなかった。

Bellerらのチームは、当初、これらの菌株からフェニル酢酸をトルエンへと変換する酵素を見つけようとしたが、そもそもこれらの菌株を用いて該当の反応を再現することができなかった。そこで彼らは既報に従って、フェニル酢酸からトルエンを作り出すことのできる enrichment

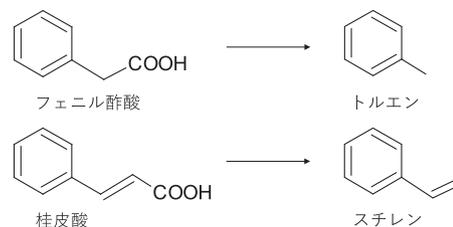


図2. フェニル酢酸および桂皮酸の脱炭酸

culture を作り出し、そこから該当の活性を有する酵素を探し出すことを試みた。粗精製酵素を用いた *in vitro* の試験で該当の活性を定量的に解析し、続いて30年前には不可能であったメタゲノムとメタプロテオーム解析を行うことで、活性の正体や活性を有する微生物 (*Acidobacteria* strain Tolsyn, ただし菌株は単離されていない) を明らかにした^{2,3)}。当該酵素はフェニル酢酸を脱炭酸してトルエンを生成する新たなグリシルラジカル酵素であり（図2）、現在、トルエンを生成することのできる唯一の酵素である⁴⁾。これまでに、フェニル酢酸をグルコースから生産することのできる菌株は報告されているので、そのような菌株にこの酵素の遺伝子を導入することで、バイオジェニックトルエンを生産することが可能になるかもしれない。ちなみに、これまでに石油系の芳香族炭化水素で再生可能資源から生物的に合成されたのはスチレンのみである（図2）⁵⁾。スチレンは透明度の高いプラスチック「ポリスチレン」の原料であり、使い捨てシャーレで多くのバイオ系研究者がお世話になっている。ただし、バイオジェニックスチレンを高い収量で生産することは現段階ではきわめて困難であり、実用化にはほど遠い。今後、バイオジェニックトルエンの開発に成功したとしても同様の問題が起こるであろう。しかしながら、このオーファン酵素の解明は、BTXの一角であるトルエンを再生可能資源から作るための道を開いたという点で非常に素晴らしい成果である。

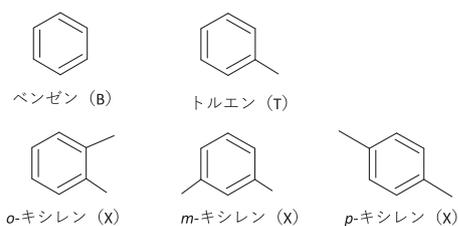


図1. BTX

- 1) Sorokina, M.: *Biol. Direct*, **9**, 10 (2014).
- 2) Zargar, K. *et al.*: *Sci. Rep.*, **6**, 31362 (2016).
- 3) Beller, H. R. *et al.*: *Nat. Chem. Biol.*, **14**, 451 (2018).
- 4) Rodrigues, A. V. *et al.*: *ChemBioChem*, **21**, 663 (2020).
- 5) McKenna, R. *et al.*: *Metab. Eng.*, **13**, 544 (2011).