



酵素化学の道を拓く

江口 正 研究室～物質科学専攻



江口 正 教授

化学反応を進める際、触媒として関与しているのが酵素である。人間は昔から、アルコール発酵やイースト発酵など、酵素の力を借りてきた。現在では、酵素は化学プラントで触媒として用いられ、新薬として承認される化合物の合成にも関与して、化学工業になくはない存在である。

江口研究室では、微生物が合成する化合物がどのように合成されているのか、どのような機能をもつのかを化学の視点から明らかにしようとしている。本稿ではこのような先生の研究の中からいくつかの酵素を紹介する。



微生物内での酵素反応

生体内では多様な化学反応が行われており、それにより生命が維持されている。化学反応を進めるために、酵素が大きな役割を果たしている。酵素とは生体内で合成される化合物で、生体内で起こる反応を触媒する役割をもつ。酵素が触媒する化合物を基質といい、酵素が触媒する反応を酵素反応という。酵素反応の例としては、アミラーゼがデンプンを分解する反応がある。この例では、酵素はアミラーゼ、基質はデンプンである。

一般に、酵素が触媒する基質は酵素ごとに決まっている。これを基質特異性と呼び、この特異性のために酵素は多くの化合物の中から自身が触媒する化合物のみを選んで触媒する。生体内には色々な化合物が存在しており、基質とそれを触媒する酵素だけが存在するような単純な状態ではない。酵素の基質特異性は、予期せぬ反応が起きて、生命の維持に悪影響を及ぼさないために備わっている性質である。

江口先生は微生物の二次代謝の解析やその応用について研究している。生体内において、酵素の触媒としての働きによって化合物を合成する化学反応を代謝といい、一次代謝と二次代謝の二種類

がある。一次代謝とは生命の維持に必須である、糖、アミノ酸や脂肪酸などを合成する化学反応であり、二次代謝とは生命の維持に直接関与しないが、重要な化合物を合成する化学反応のことである。二次代謝で合成される化合物の中には、抗生物質として医薬や農薬に用いられるものなど、有用な化合物も多い。先生はそのような微生物の二次代謝の詳細な反応経路を化学の視点から解明しようとしている。

微生物は何十億年もの間、生存競争の過程で多様な化合物を合成できるように進化してきた。そのため、微生物の合成する化合物は、研究者でも想像できないような複雑で有意な構造をしている場合も少なくない。微生物がどのように化合物を合成しているのかを解明するために、触媒として反応に関わっている酵素の機能を解明する必要があるのだ。

酵素の機能を解明するということは、どのような基質に対して酵素が作用するのか、どのような反応を酵素が触媒するのかの二つを解明することである。これから先生の研究によって機能が解明された酵素についていくつか紹介していく。



ブチロシン合成酵素

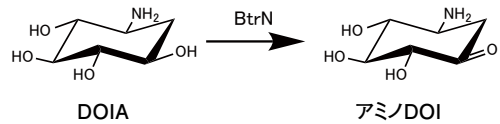
江口先生はブチロシンという抗生物質の合成過程を調べ、その研究の中で興味深い反応機構をもつ酵素反応を発見した。

まず、先生はブチロシンの合成過程を調べるために、ブチロシンを合成する微生物の遺伝子配列を調べた。微生物の遺伝子配列を調べることで、合成に関わる酵素を予想できるからだ。

ブチロシンの合成に関わる酵素を予想するため、DNA シーケンサーという分析機器でブチロシンを合成する微生物の遺伝子配列を調べ、得られた遺伝情報を解析した。ブチロシン合成酵素のように二次代謝の反応に関わる酵素を発見する遺伝情報は、特定の一か所にまとまって存在しているの、その部分の遺伝子を調べた。ここでいう発現とは、遺伝情報に基づいて、生物が酵素を合成することである。

次に、酵素がどのような反応に関わっているのか予想するために、既知の酵素を発現する遺伝子配列と比較した。遺伝子配列が似ているならば、性質も似ていると予想される。このようにして、未知の酵素反応がどのようなものかある程度予想することができる。

実際にブチロシンを合成する微生物の遺伝子配列を調べたところ、反応に関わっていると予想される酵素を発現する遺伝情報がいくつか見つかった。その中のある酵素を発現する遺伝情報を、既知の酵素を発現する遺伝情報と比較したところ、ラジカル SAM 酵素と呼ばれる酵素を発現する遺伝情報に似ていることが分かった。ラジカル SAM 酵素とはラジカル反応を触媒する酵素である。また、ラジカルとは不対電子のことであり、



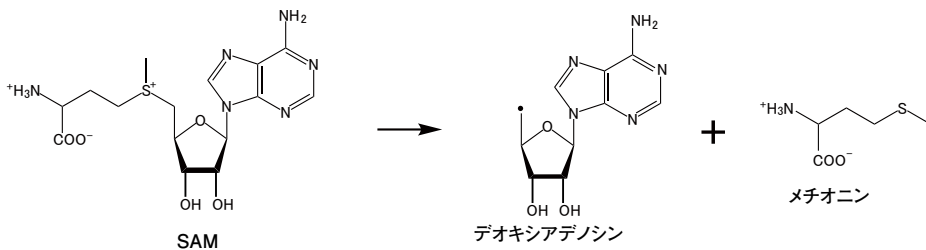
ブチロシンの合成の反応の一つで、BtrNが関わっていると推定された反応

図1 ブチロシン合成の反応の一つ

ラジカル反応とは、ラジカルが他の分子から電子を引き抜き、引き抜かれた分子がラジカルを形成する反応である。先生は、このラジカル SAM 酵素に類似した、ブチロシンの合成に関わっている可能性のあるこの酵素を BtrN と名付けた。

一般的にラジカル SAM 酵素が関わる反応では、デオキシアデノシルラジカルという化合物が生成されることが知られている。ラジカル SAM 酵素は、生体内で非常に重要な代謝経路に関わっていることが既に知られていたのだが、酸素に対して不安定なため、詳しい反応機構はこれまで数例しか調べられていなかった。そこで、先生はブチロシンの合成過程でどのようなラジカル反応が行われているのかに興味をもって、ラジカル SAM 酵素に類似していた BtrN の反応機構を調べた。

遺伝情報を調べるだけでは、BtrN が本当にブチロシンの合成過程に関わっていると判断するには不十分であり、どのような基質を触媒し、どのような反応に関わっているのかを知ることができない。そこで、BtrN が本当にブチロシンの合成過程に関与しているのかを調べた。これは BtrN を発現する遺伝子を破壊した結果、生成物であるブチロシンが合成されなかったという実



SAMが開裂して、デオキシアデノシンとメチオニンになる反応

図2 SAMの開裂反応

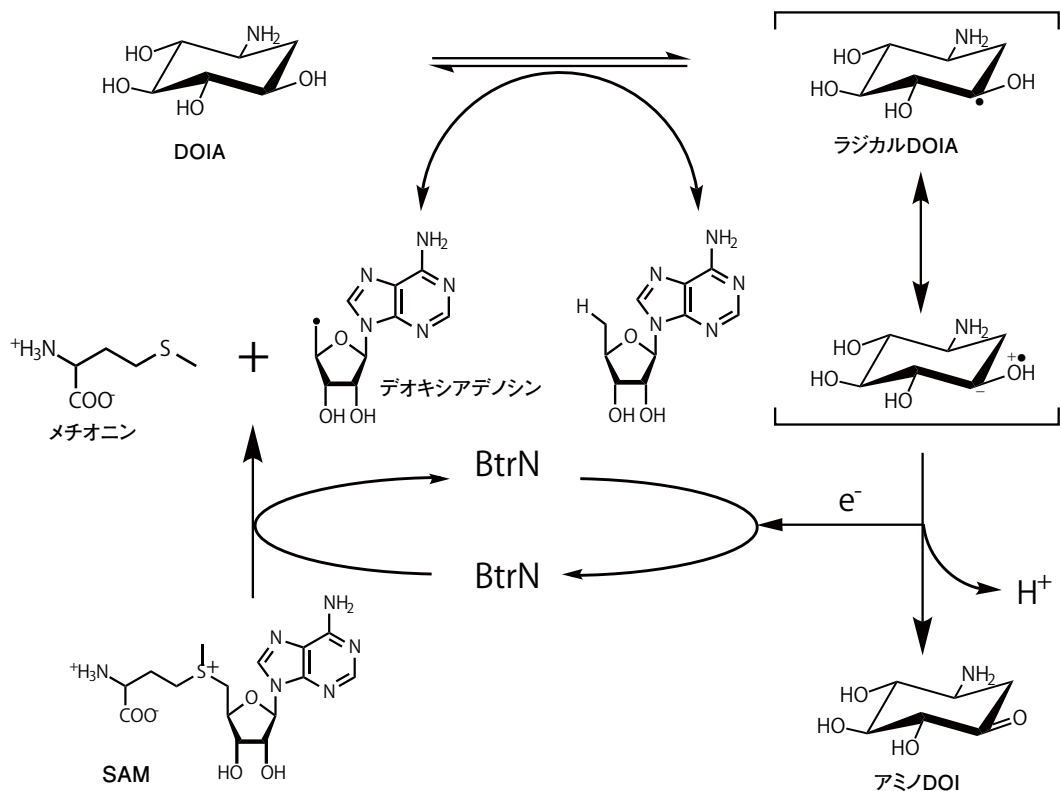


図3 BtrNの反応機構

験結果から確かめられた。

BtrNがプチロシンの生合成に関与していることが明らかになったので、先生は次にBtrNがどのような反応に関与しているのかを調べた。プチロシンを合成する過程の反応と、反応に関与すると思われる酵素との対応をすべて実験を行い、確かめていった。その結果、BtrN以外の酵素とそれらの酵素反応を対応させることができた。このことから、BtrNは図1のようなDOIAという化合物を基質として、アミノDOIという化合物に変化させる反応に関わっているということが予想できた。

BtrNが関与する反応を絞り込めたので、次に反応機構について調べていった。BtrNの基質がDOIAと予想されたので、溶液中にBtrNとDOIAのみを入れて反応させようとしたが、反応は進まなかった。

そこで、BtrNの遺伝情報がラジカルSAM酵素に似ていることから、SAMが分解する反応がどこかに含まれていると予想して、溶液にBtrN

とDOIAとSAMを入れて反応させた。SAMとはデオキシアデノシンとメチオニンからなる化合物である。その結果DOIAがアミノDOIに変化する反応が確認できた。反応後の溶液を調べたところ、図2のようにSAMが分解してデオキシアデノシンに変化していることが分かった。

BtrNはラジカルSAM酵素と遺伝情報が似ているので、DOIAをアミノDOIに変化させる反応はラジカル反応であると予想された。この反応は溶液中にBtrNとDOIAとSAMが存在する条件下でのみ進行する。以上のことから先生は図3のような反応機構を予想した。

予想した反応機構を確かめるために分析機器を用いて反応溶液を分析したところ、ラジカルDOIAの存在を確認できた。よってDOIAからアミノDOIへの反応は図3左上のDOIAから右上のラジカルDOIAを経て、右下のアミノDOIに変化する反応であると分かった。また、図3左下のSAMがデオキシアデノシンに分解される反応が起こっていることも確認できた。

一方、デオキシアデノシンが DOIA から水素原子を受け取って、DOIA をラジカル DOIA にする反応は、この時点ではまだ確認できていなかった。そこで、この反応については重水素原子を用いた実験により調べた。デオキシアデノシンの末端の炭素に水素原子が移動する反応を確認するため、移動すると予想された DOIA の水素原子を重水素原子に置き換えた化合物を用意した。水素原子を重水素原子に置き換えても、化合物の反応性はほとんど変化しないため、分析機器を用いて重水素原子がどの分子に含まれているかを調べることで、反応における水素原子の移動を追跡することができる。先生は、どのように重水素原子が移動しているのか調べていった。

分析の結果、デオキシアデノシンの炭素に重水素原子が移動していることが分かった。また、

DOIA から水素原子が引き抜かれたラジカル中間体の存在も構造解析によって確認できた。

以上のことから、DOIA がアミノ DOI になる反応は図 3 のような反応機構であるということが分かった。

BtrN は DOIA を基質にする予想されていたが、実際には、基質は DOIA でなく SAM であった。BtrN は SAM を分解し、同時に DOIA を酸化する酵素であった。酸化した DOIA はデオキシアデノシンによってラジカル DOIA に変化し、ラジカル DOIA は BtrN によって水素イオンと電子を引き抜かれるという反応機構であることがわかった。ラジカル反応によるヒドロキシ基の酸化反応を触媒する酵素はこれまで知られていなかったため、BtrN という非常に珍しい合成酵素を発見できたといえる。

酵素反応の機能解析

江口先生は他にもさまざまな酵素反応について研究している。すでに述べたように酵素は基質特異性を有している。多くの場合、基質特異性により酵素と基質が一对対応しているが、中には基質に似た構造の化合物に対してもある程度触媒する酵素もある。このように、多少基質と構造が異なる化合物に対しても触媒する酵素を基質特異性が低い酵素といい、厳密に基質を選択する酵素は基質特異性が高い酵素と呼ぶ。

先生は、ある化合物の合成酵素を調べている過程で、基質特異性が非常に FD-594 という低い酵素を発見した。ここでは、この酵素について紹介する。

FD-594 は微生物によって合成される抗生物質である。この化合物は図 4 に示す構造式左下の糖が三つ結合した部分と、アグリコンと呼ばれる糖ではない部分

先生は、どのように FD-594 が合成されているのかを調べるため、FD-594 を合成する微生物の遺伝子配列を解析した。

FD-594 の合成反応は二次代謝である。一般的に、二次代謝の反応に関わる酵素を発現する遺伝子は DNA 上の一か所にまとまって存在している。微生物の遺伝子のうち、FD-594 の合成に関わっている部分を解析したところ、この抗生物質

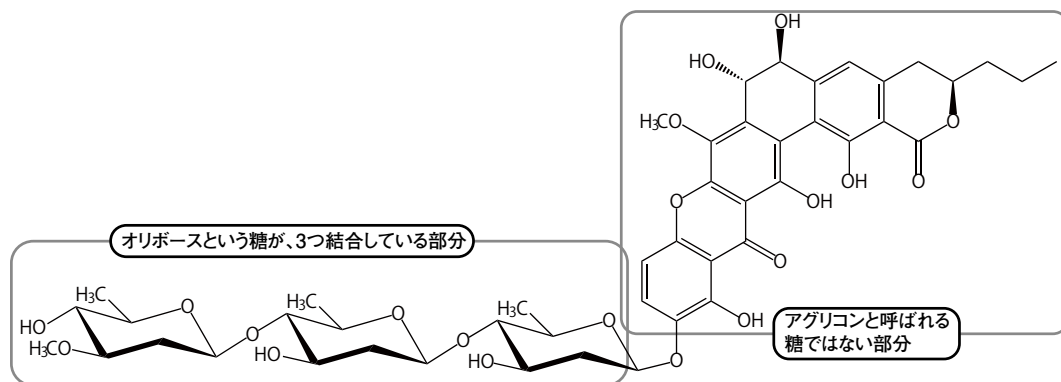
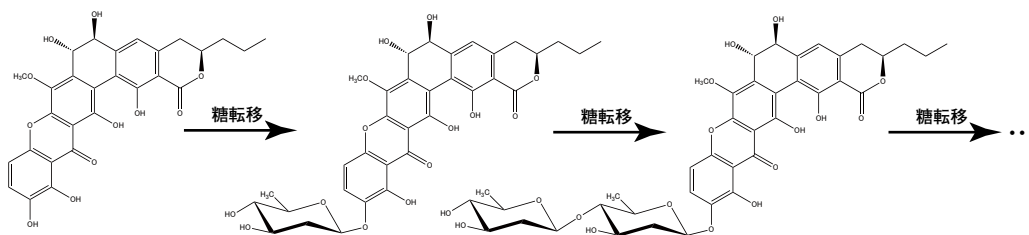


図 4 FD-594 の構造式



糖転移した後の化合物も基質として触媒する
糖転移は糖が5~6個になるまで続くこともある

図5 糖転移反応による基質の構造変化

の合成に関わる可能性のある酵素を発現する遺伝情報量が40種類以上も見つかった。

FD-594と同様に合成途中の化合物も複雑な構造であるため、単離することは難しい。合成途中の化合物が得られないと、途中の反応に関わる酵素について実験を行うことができない。また、反応に関わっている可能性のある酵素が40種類以上もあるため、全ての酵素について調べることは困難である。そこでまず、先生はこれらの酵素が関わる酵素反応の中から、二つの酵素反応の反応機構を特定した。

特定された酵素反応のうちの一つはアグリコンに糖を転移する反応であった。糖転移とは特定の糖を基質の特定部分に結合させる反応のことである。先生はこの反応に関与している酵素をPnxGT2と名付けた。PnxGT2はFD-594のアグリコンを基質としている。この酵素反応は基質にオリボースという糖を転移させる反応である。

この酵素反応は以下のようにして特定された。まずPnxGT2を大腸菌に発現させ、単離した後に、精製した。次に、FD-594を酸で処理して糖を切り離し、基質であるアグリコンのみにした。その状態で、糖とアグリコンをPnxGT2が含まれる溶液で反応させた。

反応後の溶液を分析して含まれている化合物を調べたところ、溶液中には糖が三つから四つ転移している基質が存在することが確認された。

PnxGT2はアグリコンだけではなく、アグリコンに糖が一つ結合した化合物にも糖を転移させることができ、アグリコンに糖が二つ以上結合した

化合物にも糖を転移させることができる。つまり同じ酵素が図5のように糖転移反応によって生成した化合物に対しても、基質として触媒し続けている。

FD-594の合成は、PnxGT2がアグリコンに糖を三つ転移させた後に、メチル化酵素によって三つ目の糖のヒドロキシ基がメチル化されることで終了した。この反応が、特定された二つ目の酵素反応である。

メチル化酵素の存在しない条件下で、アグリコンと糖をPnxGT2を用いて反応させると、糖転移反応は、糖が三つ転移した後も進行し続けて、アグリコンに糖が五つや六つ転移された化合物も確認された。転移反応が起きても変わらず触媒し続ける酵素はあるが、通常、転移反応は一つか二つが限度であるため、この酵素のように五つや六つも転移反応を続ける酵素は特異である。

遺伝情報からどのような酵素を発現するのかは、すでに詳しく分かっている。しかし、酵素がどのような反応に関わり、どのような基質を触媒するのかは、実験をして調べていくしかない。

現在は実験を行って酵素反応を調べていくしかないが、将来的には遺伝子の配列から直接酵素反応を特定できるように研究している。さまざまな酵素について、酵素と酵素反応の関係について調べていけば、その一般的な関係性が徐々に明らかになっていく。そうすれば、酵素という触媒を使って、新しい抗生物質を作り出せたり、現在は石油から作られている工業原料などを、温和な条件下で作り出せるようになると先生は考えている。

今回の取材で伺った酵素の話は、大変興味深いものでした。お忙しい中、度重なる取材に親切に

応じてくださった江口先生に心よりお礼申し上げます。
(柏崎 裕貴)