今日の話題

ユニークなセスクアテルペン (C₃₅テルペン) 生合成経路 今までに類のない新型と二機能性テルペン環化酵素の同定

テルペノイド (イソプレノイド) は、5万種類を超える天然有機化合物群であり、ホルモン、ビタミン、薬剤、香料、機能性食品素材などとして有用な生理活性物質も数多く知られている。炭素数5個のイソプレン単位によって、ヘミテルペン (C₅)、モノテルペン (C₁₀)、セスキテルペン (C₁₅)、ジテルペン (C₂₀)、セスタテルペン (C₂₅)、トリテルペン (C₃₀) またはテトラテルペン (C₄₀) に分類されるが、C₃₅テルペンには長らく特別な分類名が存在しなかった。その大きな要因は、直鎖状C₃₅イソプレノイドの環化を経て生合成される環状C₃₅テルペンが最近まで見だされていなかったことが考えられる。そのような背景のなか、最近になって直鎖状C₃₅イソプレノイドの環化を経て生合成されると予想される (既存の分類体系に属さない) 環状C₃₅テルペンが *Bacillus* 属と *Mycobacterium* 属細菌から発見されてきた^(1~7)。酵素・遺伝子レベルの研究に進展があった *Bacillus* 属細菌のものを中心にご紹介する。

2008年に環状C₃₅テルペン **2** と **3** (当初は抽出操作中に生じる脱水体が報告された) が枯草菌 *B. subtilis* から見いだされ、「直鎖状C₃₅イソプレノイドの環化を経る生合成経路」(**1**→**2**→**3**) が想定された⁽¹⁾ (図1)。遺伝子破壊実験からスクアレン環化酵素に類似した SqhC が **2** から **3** への変換を触媒することが提案された⁽¹⁾。しかし、経路を証明する鍵となる「直鎖状C₃₅イソプレノイドの環化」(**1**→**2**) の段階を触媒する酵素については全く知見がなく、1990年代から数多く同定されてきた既知テルペン環化酵素の類似遺伝子が枯草菌ゲノムに存在

していなかった。そこで、既知テルペン環化酵素の一次構造と類似性をもたない新型テルペン環化酵素の探索のため、まず枯草菌遺伝子破壊株ライブラリーから **2** を生産しない株が分析され、一つの株 (*ΔytpB*) が見いだされた⁽²⁾。次に、大腸菌組換え YtpB が精製され、基質 **1** との *in vitro* 酵素反応が行われ、生成物 **2** が確認された⁽²⁾。つまり、新型テルペン環化酵素 (TS) が初めて同定された。TC (SqhC) についても *in vitro* 酵素反応によって同定が行われ、「直鎖状C₃₅イソプレノイドの環化を経る生合成経路」(**1**→**2**→**3**) が酵素・遺伝子レベルで明確に証明された⁽²⁾。したがって、C₃₅テルペンに新しい分類名が必要となり、新しい分類名「セスクアテルペン (sesquaterpenes)」が提唱された [sester- になって、4つ目 (ラテン語 *quartus*) が半分 (ラテン語

図1 ■ *Bacillus* 属細菌におけるセスクアテルペンとトリテルペンの生合成経路

semis) の意味で命名]⁽²⁾。

新型テルペン環化酵素 (TS) ホモログは, *Bacillus* 属細菌だけでなくさまざまな細菌のゲノムに存在している。すでに, 好アルカリ性 *Bacillus* 属細菌の TS ホモログの解析がなされ, 新規セスタ (C_{25})/トリテルペン (C_{30}) の合成酵素であることが報告されている⁽⁸⁾。したがって, TS ホモログはさまざまなテルペン類の環化酵素ファミリーであることが明らかになった。今後, TS ホモログの解析はさらに新規テルペノイドの発見を導くかもしれない。また, 既知テルペン環化酵素に保存されているモチーフが TS には存在しない。生化学的・構造生物学的手法によって新しい触媒機構が解明されることも期待したい。

四環を形成する TC は, スクアレン ($4:C_{30}$) の五環性トリテルペンへの変換を触媒するスクアレン-ホペン環化酵素の一次構造と類似性がある。TC は *in vitro* 酵素反応によって **4** を二環性トリテルペン (**5**) へ変換した (図1)⁽³⁾。もし, **4** を合成するスクアレン合成酵素が菌体内に存在すれば, TC は C_{35} の **2** と C_{30} の **4** の両方を生体内で環化する二機能を果たしている可能性がある。そこで TS と TC に加えスクアレン合成酵素ホモログをもつ6種の *Bacillus* 属細菌の脂質成分が解析され, *B. megaterium* においてセスクアテルペン (**2** と **3**) およびトリテルペン (**4** と **5**) の存在が確認された⁽³⁾。加えて *B. megaterium* 由来 TC は *in vitro* 同一反応系によって **2** と **4** の両方を環化した⁽³⁾ (図1)。したがって, *B. megaterium* 由来 TC は炭素数の異なる2種類のテルペンを生体内で生合成する初めての二機能性テルペン環化酵素であることが明らかになった⁽³⁾。特に **3** と **5** において炭素骨格が異なることは興味深い。天然物の生合成酵素の中には基質特異性の低い酵素が知られていることから, 酵素の二機能性に着目することによって新規天然物が今後発見される可能性がある。

Mycobacterium 属細菌のセスクアテルペン生合成経路においても二機能性 Z 型プレニル鎖伸長酵素が初めて見いだされるなどユニークな酵素が存在しているようである⁽⁴⁻⁷⁾。特に, テルペン環化酵素に関しては, 枯草菌の TS を含めても既知テルペン環化酵素の類似遺伝子がなく, 全く新しいタイプのテルペン環化酵素の存在が推定される。したがって, 今後もセスクアテルペンの生合成研究からインパクトのある発見がなされるものと考えられる。

以上のように, 2011年に命名されたばかりの新しいテルペン類であるセスクアテルペンの生合成経路から, 今までに類のない酵素が見いだされてきた。それだけでなく, TS ホモログが他のテルペン類の合成酵素であったり⁽⁸⁾, TC がトリテルペンも環化する二機能性酵素であるなど⁽³⁾, 他のテルペン類の探索や生合成研究へも波及しつつある。自然界において未だに見いだされていない数多くのテルペノイドが, 現在知られているものと類のない酵素・経路によって生合成されている可能性が十分にあり興味が尽きない。今後の研究に期待したい。

- 1) T. Bosak, R. M. Losick & A. Pearson: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 6725 (2008).
- 2) T. Sato, S. Yoshida, H. Hoshino, M. Tanno, M. Nakajima & T. Hoshino: *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 9734 (2011).
- 3) T. Sato, H. Hoshino, S. Yoshida, M. Nakajima & T. Hoshino: *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 17540 (2011).
- 4) T. Sato, A. Kigawa, R. Takagi, T. Adachi & T. Hoshino: *Org. Biomol. Chem.*, **6**, 3788 (2008).
- 5) T. Sato, R. Takagi, Y. Orito, E. Ono & T. Hoshino: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 147 (2010).
- 6) T. Sato, K. Takizawa, Y. Orito, H. Kudo & T. Hoshino: *ChemBioChem*, **11**, 1874 (2010).
- 7) T. Sato, E. Ono, M. Nakajima, C. Nakano & T. Hoshino: *Tetrahedron Lett.*, **53**, 2522 (2012).
- 8) 佐藤 努, 山鹿宏彰, 鹿島將志, 中島真美, 仲野千秋, 星野 力: 2012年度日本農芸化学会大会 (3A06a12)

(佐藤 努, 新潟大学農学部応用生物化学科)