イソプレノイドの生合成 イソプレン単位の酵素的重合

小倉協三・古山種俊

Kyozo Ogura・Tanetoshi Koyama, 東北大学非水溶液化学研究所

高分子科学は天然に類似の、あるいは天然にはないような優れた物性の材料をたくさん生みだしてきたが、今や高分子にさらに高い付加価値を与えるべく、いわゆる機能性高分子の研究開発がさかんである。神秘的なまでに絶妙な合目的性を備えた生体の諸機能も、結局は高分子に施された自然の精緻な分子設計の所産にはかならないという考えに立つと、分子設計しただけで、まだまだこれから驚異的な機能をもつ人工高分子が開発されるだろうと期待される。高分子の魅力はまさにこの分子設計に無限の可能性を秘めているところにあると思う。

「他分野からみた高分子」ということで何か書くようにと上記の表題をいただいたが、日頃イソプレノイド生合成の研究を通して、酵素の妙味に触れているので、酵素という生体機能高分子触媒の魅力のいくつかについて紹介させていただくことにする。

1. イソプレノイドとプレニルトランスフェラーゼ

イソプレン単位が構成要素であるイソプレノイド化合物はゲラニオールやファルネソールから天然ゴムにいたるまで、さまざまなものが天然に存在し、あまた

Biosynthesis of Isoprenoids—Enzymatic Polymerization of Isoprene Units

も生体内でイソプレンの1,4-付加重合反応が起こっているかの様相を呈している。しかし、生体内でのイソプレン単位はイソプレンではなくイソペンテニルピロリン酸 (IPP) であることはいまでもなく、その重合反応は酵素により整然と調節されている。人工触媒によるイソプレンの重合による合成ゴムの開発はめざましい成果をあげており、天然ゴム独得の物性にはなお隔たりがあるといわれるものの、合成という観点からは、1,4-シスポリイソプレンの製法は一見、生合成に肉迫しているといえよう。しかし、この重合を任意の一定鎖長で停止させて、しかも立体異性体をいっさい含まないように、オリゴマーを得ることは至難の業であろう。生体系で起こるイソプレン単位縮合によるイソプレノイド鎖の形成を触媒する酵素は、単に反応を立体特異的に進行させるという点のみならず、繰り返しの縮合反応を一定のステップで停止させる機能をもつという点で、合成的見地から魅力ある触媒である。

イソプレノイド鎖の延長反応は IPP とそれから異性化酵素により導かれるジメチルアリルピロリン酸 (DMAPP) との縮合にはじまるいわゆる head-to-tail 縮合による C-C 結合生成反応の繰り返しである。これらの鎖延長反応の触媒となる酵素はプレニルトラン

小倉協三 東北大学非水溶液化学研究所 (980 仙台市片平 2-1-1) 教授・理博 (写真左)

昭和 37 年東北大学大学院博士課程修了。40 年米国ハーバード大学に留学。54 年より現職。以後イソプレノイド生合成、酵素反応機構、酵素による合成法の開発などを研究。＜趣味＞音楽鑑賞

古山種俊 同上、助手・理博 (写真右)

昭和 48 年東北大学大学院理学研究科化学専攻修了。同年より 49 年 7 月まで、米国スタンフォード大学研究員、49 年 9 月より東北大学非水溶液化学研究所助手。以来、生物有機化学、特にイソプレノイド化合物の生合成の研究に従事。＜趣味＞散策、土いじり

表 1 プレニルトランスフェラーゼの種類

酵素常用名	最終生成物鎖長	生成する二重結合	所 在
Geranyl PP* synthetase	C ₁₀	トランス	<i>Micrococcus luteus</i>
Farnesyl PP synthetase	C ₁₅	トランス	酵母, ブタ肝臓 トリ肝臓, カボチャ, ヒマ ヒト肝臓, <i>Bacillus subtilis</i>
<i>cis</i> -Farnesyl PP synthetase	C ₁₅	シス	ワタの根
Geranylgeranyl PP synthetase	C ₂₀	トランス	<i>M. luteus</i> , ニンジン, カボチャ, トマト, キウリ, ブタ肝臓, <i>B. subtilis</i>
Hexaprenyl PP synthetase	C ₃₀	トランス	<i>M. luteus</i> B-P 26
Heptaprenyl PP synthetase	C ₃₅	トランス	<i>B. subtilis</i>
Nonaprenyl PP synthetase	C ₄₅	トランス	<i>M. luteus</i>
Decaprenyl PP synthetase	C ₅₀	トランス	ブタ肝臓
Undecaprenyl PP synthetase	C ₅₅	シス	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>M. luteus</i> , <i>B. subtilis</i>
Dehydrololichyl PP synthetase	C _{85~105}	シス	ニワトリ輸卵管, ウサギ肝臓, ヒナトリ肝臓, Ehrlich 腫瘍細胞 エンドウ豆
Rubber synthetase	C _n	シス	<i>Hevea brasiliensis</i>

* PP は pyrophosphate の略

図 1

図 2

スフェラーゼ (Prenyltransferase) と総称され, 生成物の鎖長や立体構造に対応して, いろいろの酵素が知られるようになった. 個々の酵素を指して呼ぶときは, 生成物の化合物名をあげて合成酵素 (synthetase) 式に呼ぶことが多い. 現在までに分離され, 部分的にしろ精製されて触媒機能が明らかにされているものを表 1 に示す.

2. C₁₅ と C₂₀ までの鎖延長

プレニルトランスフェラーゼで最も古くから知ら

れ, よく研究されているのはファルネシルピロリン酸合成酵素である. この酵素は DMAPP と 2 分子の IPP から, 中間にゲラニルピロリン酸 (GPP) を経て, 全トランス-ファルネシルピロリン酸の合成 (C₅→C₁₀→C₁₅) を触媒するもので, 細菌や酵母から高等動植物にわたって広くその存在が証明されている. 酵母や肝臓のものはとくに高純度に精製されており, トリ肝臓からは安定な結晶として得られている. 分子量 85,000 で二つの等分子量のサブユニットからなる 2 量体である. ブタ肝臓の酵素による反応の立体化学が

Cornforth ら¹⁾ により, 図 2 のように明らかにされている. 著者らは FPP 合成酵素の基質の構造をいろいろに修飾した化合物を用いて, 酵素がそれらにどのように挙動するかを詳しく調べた. その結果から, この酵素の活性部位のモデルを提出したが, それについては総説²⁾ を参照されたい.

植物はジテルペンやカロチノイドの合成のために, C₂₀ までの鎖延長が重要であるが, それは FPP 合成酵素とは別のタンパクとして存在するゲラニルゲラニルピロリン酸 (GGPP) 合成酵素によって触媒される.

855

についても観察された⁸⁾。この酵素は高い Mg^{2+} イオン濃度のときは C_{80} 体のみを与えるが、低い濃度では C_{25} 体と C_{80} 体を与える。 Mg^{2+} イオン濃度がどのようなメカニズムで鎖延長の最終生成物に影響を与えているのかは明らかではないが、反応機構上示唆に富む性質として興味深い。

4. シス型鎖延長の酵素

細菌にはメナキノンのほかにもう一つ重要なイソプレノイドとして C_{55} のシス、トランス混合型のポリプレノールがある。これはリン酸エステルのかたちで細胞壁多糖鎖の生合成において糖のキャリアとしてはたらく重要な物質である¹⁰⁾。この生合成に対応するプレニルトランスフェラーゼは Allen ら¹¹⁾ により *Lactobacillus plantarum* から初めて分離され、ウンデカプレニルピロリン酸合成酵素と名付けられた。この酵素は全トランス-FPP をプライマーとして、これに8分子の IPP をシス型に連続的に縮合させる機能をもつ。同じ機能をもつ酵素が *M. luteus*¹²⁾ や *B. subtilis*¹³⁾ から分離されたが、いずれも IPP の α -位の proS の水素の脱離を伴うシス型縮合のみを触媒する。プライマーである FPP は FPP 合成酵素により提供される。細菌から分離されたこれら二つの酵素は Triton X-100 や Tween 80 のような界面活性剤や K^+ や NH_4^+ のような一価陽イオンにより著しい触媒活性の増大がみられるなど、トランス型の長鎖プレニルトランスフェラーゼには認められない性質を示す。これらのことから、 C_{55} のシス、トランス混合型のポリプレノールの生合成に関与する2種類の酵素がともに細胞膜に結合した状態で機能することが示唆される(カット 853 頁参照)。

シス、トランス-混合型のポリプレノール類は動植物界にも広く分布し、重要な生物学的役割を果たしているが、それらには、生合成的に全トランス-FPP に IPP がシス縮合したものと、全トランス-GGPP に IPP がシス縮合したものの二系列があり、鎖長は生物によってまちまちである。たとえばブタ肝臓には C_{85} , C_{90} , C_{95} , C_{100} , C_{105} のドリコールと呼ばれる一群があり、前者の系列に属する。ドリコールは OH 末端側の一つの二重結合が還元されて飽和になっている。これらドリコールの生合成に対応するプレニルトランスフェラーゼが動物組織から粗酵素のかたちで得られており、全トランス-FPP をプライマーとしたシス型鎖延長が確認されているが、詳しい酵素の性質はまだ知られていない。

天然ゴムは分子量 10 万~100 万にわたるシスポリイソプレンであるとされており、ゴムの樹のラテック

図 4

スよりシス型の重合を触媒する酵素タンパク画分が部分精製されている。この酵素画分は DMAPP をプライマーとすることができず、すでに生長しつつあるゴム粒子に IPP を付加重合させる機能が確認されているのみである¹⁴⁾。天然ゴムの生合成におけるシス重合の最初のアリル性基質が何であるかは不明であるが、全トランス-FPP または全トランス-GGPP である可能性が強い¹⁵⁾。最近、セイタカアワダチソウから得られたポリシスイソプレンに重合度約 1,000 のものと 2,200 のものがあるが、それらは末端に全トランス-ゲラニルゲラニル基をもつことが示された¹⁶⁾。これらのことから、天然には、2つの系列のポリプレノールが基本となって多様な鎖長で分布しているものと考えられる。

おわりに

イソプレノイドの生合成における基本的な鎖延長に関与する酵素についての最近の研究成果を概観した。新しい機能性高分子を開発するためのモデルとするには、これらの酵素にはまだあまりにも未知のことが多い。有機合成的観点から興味深い酵素であるだけに、酵素自身の構造や活性部位に関する知見の集積が期待される。イソプレノイド化合物にはおびただしい種類のものが知られており、とくに植物におけるイソプレノイドの構造の多様性は驚くほどであるが、それはすべて種々の鎖長のプレニルピロリン酸から生合成されるものである。これらの合成に関与する酵素については紙面の都合で割愛したが、天然物の種類に比べれば、まだほんのごく一部分の酵素が分離されているに過ぎず、また酵素の純度も低い。これからの研究がまたれる。

触媒としての酵素の特徴は高い加速性と高い特異性であるといわれる。特異性には反応の立体特異性などのほか基質特異性があるが、これらの特異性は条件しだいでは流動的であることが少なくない。細胞内で環境の変化に対応して調節できるしくみをもつ酵素も少なくない。これらの機能は高分子であるタンパク分子の高次構造のつくる活性部位の「かたさ」や「ゆらぎ」に基づくものと思われる。細胞内という複雑な環境から取り出されて、試験管内で酵素が本来の基質とは異

なる化合物に出合ったり、異なる環境のもとではたらかせると、酵素は意外な触媒機能を発揮することがある。酵素の触媒としての弱点はそのままでは通常不安定で、大量合成には適さないことである。しかし、これらの弱点は固定化技術などによって解決されて、実用に供されているものも少なくない。そこでは支持体として人工高分子が利用されるが、優れた支持体の開発とともに、新規な酵素の探索、分離と、既知の酵素についても、新しい機能の開発がなされることによって、酵素の合成的利用の範囲はどんどん広がっていくものと期待される。

文 献

- 1) G. Popják, J. W. Cornforth: *Biochem. J.*, **101**, 553 (1966)
- 2) 小倉協三: 生化学, **47**, 808 (1975)
- 3) H. Sagami, K. Ishii, K. Ogura: *Biochem. Int.*, **3**, 669 (1981)
- 4) H. Sagami, K. Ogura, S. Seto: *Biochemistry*, **16**, 4616 (1977)
- 5) H. Sagami, K. Ogura, S. Seto, T. Kurokawa: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **85**, 572 (1978)
- 6) I. Takahashi, K. Ogura, S. Seto: *J. Biol. Chem.*, **255**, 4539 (1980)
- 7) I. Takahashi, K. Ogura: *J. Biochem.*, **89**, 1581 (1981)
- 8) H. Fujii, T. Koyama, K. Ogura: *J. Biol. Chem.*, **257**, 14610 (1982)
- 9) H. Fujii, H. Sagami, T. Koyama, K. Ogura, S. Seto, T. Baba, C. M. Allen: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **96**, 1648 (1980)
- 10) C. J. Waechter, W. J. Lennarz: *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 95 (1976)
- 11) C. M. Allen, M. V. Keenan, J. Sack: *Arch. Biochem. Biophys.*, **175**, 236 (1976)
- 12) T. Baba, C. M. Allen: *ibid.*, **200**, 474 (1980)
- 13) I. Takahashi, K. Ogura: *J. Biochem.*, **92**, 1527 (1982)
- 14) B. L. Archer, E. G. Cockbain: *Methods in Enzymology*, **15**, 476 (1969)
- 15) 小倉協三: 日本ゴム協会誌, **55**, 642 (1982)
- 16) 田中康之: 日本ゴム協会誌, **55**, 652 (1982)

高分子実験学第12巻「熱力学的・電気的および光学的性質」を発売

本会出版委員会では、本年12月高分子実験学第11巻「熱力学的、電気的および光学的性質」を刊行します。ひろく会員の皆様のご購入をいただきたくご案内します。

なお、高分子実験学は全18巻からなり、これまでに本巻を含めて13巻が刊行されています。

編集 高分子学会

発行 共立出版

編集幹事 深田栄一(理研)

会員特価 8,100円(定価 9,000円) A5判・392頁・上製・函入

<内容> 1. 状態方程式(東工大)野瀬卓平 2. 熱的性質(阪工大)影本彰弘・馬場義博(群工大)神戸博太郎(理研)川村泰彬 3. 界面現象(東工大)飯島俊郎(東洋製紙総合研究所)岸本 昭(東工大名誉教授)畑敏雄(ニチパン)北崎寧昭 4. 導電性(阪工大)三川 礼・野上 隆・横山正明(名工大)家田正之 5. 誘電性(九大総合理工研)斎藤吾吾 6. 静電気現象(理研)古川猛夫・高橋俊昭(維高研)佐々木寛治 7. 光学的性質(農工大)金子六郎

第4巻「付加重合・開環重合」

編集幹事 鶴田禎二(東理大工)

会員特価 10,800円(定価 12,000円) A5判 544頁・上製・函入

<内容> 1. ラジカル重合(阪市大工)大津隆行・山田文一郎(名工大工)横田健二(大阪商大)木村 章 2. アニオン重合(名工大工)浅見柳三(阪大名誉教授)結城平明(阪大基礎工)岡本佳男 3. カチオン重合(京大工)東村敏延 4. 有機金属錯体による重合(東工大資源研)山本隆一・斎藤豊治・山本明夫(東理大理工)小林英一・古川淳二 5. ヘテロ多重結合(京大工)三枝武夫・小林四郎 6. 開環重合(名工大)山下雄也(東大工)井上祥平 7. 特殊条件下の重合(東理大工)鶴田禎二(阪大産研)入江正浩・林 晃一郎(東工大資源研)田附重夫(神奈川歯科大)山崎 升(東工大工)中浜精一(阪市立大工)小郷良明 8. 低重合(京工織大工)山下晋三(東工大資源研)内野正弘(阪大基礎工)斎藤太郎(東大名誉教授)浅原照三(神奈川県工試)佐藤 瑞

(筑波大物質工系)木瀬秀夫(小田島特許事務所)田中貞良(名大農)岡田鉦彦

第10巻「力学的性質Ⅱ」

編集幹事 和田八三久(山形大工)

会員特価 10,800円(定価 12,000円) A5判・528頁・上製・函入

<内容> 1. ゴム弾性(合成ゴム)山本和彦(京大工)川端季雄 2. 固体高分子の応力緩和とクリープ(兵庫教育大)河合弘雄(京工織大)堀野恒雄(北大工)秀島光夫 3. 固体高分子の動的粘弾性測定(北大理)金子元三(九大工)高柳素夫・梶山千里(山形大工)和田八三久(農工大)中島春彦 4. レオオブティクス(兵庫教育大)河合弘雄(京大工)浅田忠裕・橋本竹治(もと阪大工)副島吉雄 5. 塑性変形と破壊(名工試)飯田昌造(富士フィルム)上野 彌(京大工)川端季雄(九大応力研)高橋 清(ブリヂストン)吉村信哉(東北大非水研)村上謙吉 6. 摩擦・摩擦・硬度(富士フィルム)上野彌(九大工)竹村哲男(機械技研)渡辺 真(合成ゴム)古田薫 7. 接着と剝離(東理大工)野中保雄

申込方法 本会会員に限り会員特価でお頒ちします。住所・氏名・所属・電話番号・会員番号を明記し、ハガキでお申し込み下さい。