イソプレノイド鎖延長酵素の機能†

古山 種 俊, 小倉 協 三

(東北大学反応化学研究所)

自然界に著しい多様性を示して存在するイソプレノイド化合物は L. Ruzicka が 1938 年に提出したイソプレノ則に示されているように、炭素数 5 のイソプレノ単位が頭部と尾部で結合した型を基本としている。このイソプレノ単位の基本骨格の形成反応は「プレニルトランスフェラーゼ」と総称される一連の酵素によって触媒される。

プレニルトランスフェラーゼの触媒する反応を図 1 に示すが、プレニル二リン酸にイソプレノ単位の本体であるイソペンテニル二リン酸 (IPP) が順次重合的縮合を繰り返す、 C_{5n} の二リン酸エステルが生成する。

この酵素反応で 1) IPP の縮合のたびに形成される二重結合の立体配置は *E* か *Z* か? 2) 生成物のイソプレノ鎖長はどれだけか? という特異性に対応しているいろいろな種類のプレニルトランスフェラーゼが存在しており、おのおのの酵素は一般に「最終生成物のプレニル二リン酸合成酵素」という形で呼称されている。

1. プレニルトランスフェラーゼの活性発現機構によるグループ分け

現在までにいろいろな生物から見出されているプレニルトランスフェラーゼは十数種類知られているが、個々の酵素の性質や反応機構を調べてみると、それらは一様ではなく、大きく異なる 4 つのグループに分類できることがわかった⁽¹⁾。

プレニルトランスフェラーゼ I : C_{10} のゲラニル二リン酸 (GPP), C_{15} のファルネシル二リン酸 (FPP), および C_{20} のゲラニルゲラニル二リン酸 (GGPP) の合成酵素はいずれも細胞質中であって、反応生成物も水溶性である。この反応によって得られる GPP, FPP, およ

び GGPP は植物に広く存在するモノテルペン、セスキテルペン、およびジテルペンの生合成前駆体である。また、FPP は二量化によってできるスクアレンを経てステロイドやトリテルペンへ、また GGPP は二量化してカロチノイドへ生合成される。さらに最近、ras タンパク質、核ラミン、GTP 結合タンパク質など、生体内の重要な機能を担っているタンパク質に相次いで発見されているプレニル化タンパク質の前駆物質としても FPP や GGPP は重要である。また以下に示す他のプレニルトランスフェラーゼのアリル性プライマー基質もプレニルトランスフェラーゼ I によって供給される。

プレニルトランスフェラーゼ II-A : 全 *E* 型のポリプレニル二リン酸の合成を触媒する酵素のうち、細菌の一種、*Micrococcus luteus* B-P 26 のヘキサプレニル二リン酸 (C_{30} -PP) 合成酵素、および枯草菌 (*Bacillus subtilis*) のヘプタプレニル二リン酸 (C_{35} -PP) 合成酵素は種類のクロマトグラフィーの条件下で容易に分離される 2 つのヘテロなタンパク質成分より成っている^(2,3)。おのおのの成分は単独では酵素活性を全く示さないが、2 つの成分を合わせると酵素活性は劇的に発現する。しかし 2 つの酵素の成分に共通となる成分はない。このようなサブユニットの解離現象はプレニルトランスフェラーゼ反応のターンオーバーを維持するために重要であると考えられる。

プレニルトランスフェラーゼ II-B : 全 *E* 型のポリプレニル二リン酸の合成を触媒する酵素のうち、大腸菌 (*Escherichia coli*) のオクタプレニル二リン酸 (C_{40} -PP) 合成酵素や *Micrococcus luteus* のソラネシル二リン酸 (C_{45} -PP) 合成酵素などには疎水性の高いタンパク質性の“活性化因子”が関与している。水に可溶性短鎖のプレニル二リン酸を基質としていながら、反応生成物であるポリプレニル二リン酸は疎水性が高く、水に不溶であるため、酵素の活性中心の疎水性結合部位にとどまってしまう。したがって、このままでは生成物阻害がかか

† Enzymatic Functions for Isoprenoid Chain Elongation.
Tanetoshi KOYAMA and Kyoza OGURA (Institute for Chemical Reaction Science, Tohoku University, Sendai 980)

図1 プレニルトランスフェラーゼ反応

り、酵素反応のターンオーバーが維持できなくなる。そこで、ポリプレニルニリン酸キャリアタンパクというべきタンパク質性活性化因子によって反応生成物を酵素の活性部位より引き離すことにより酵素反応のターンオーバーを維持していると考えられる。

プレニルトランスフェラーゼIIに属する酵素によって合成される全E型ポリプレニルニリン酸は電子伝達系に関与するユビキノン、メナキノンおよびプラストキノンなどの長いプレニル側鎖の前駆体であり、生物の種類によりそのプレニル鎖長は一定である。したがってそれに対応して、いろいろな種類のプレニルトランスフェラーゼが存在する。

プレニルトランスフェラーゼ III: プレニルトランスフェラーゼ III の酵素は細胞膜の構成成分であるリン脂質の存在下で酵素活性が発現される。FPP などの短鎖のプレニルニリン酸をプライマー基質として、Z型鎖延長反応を触媒するプレニルトランスフェラーゼは可溶化するとほとんどの場合そのままでは活性がなく、Triton X-100 などの界面活性剤を添加してはじめて酵素活性が発現される。これらの酵素は膜酵素で、膜の疎水的環境が活性発現に必須であると考えられる。このグループに属する酵素は細菌の細胞壁生成に必須な糖キャリアリピドである、ウンデカプレニルリン酸や真核生物の糖タンパク質生成に必須な糖キャリアリピドとなるドリキルリン酸などを供給する。これらの酵素はZ型鎖延長反応を触媒するプレニルトランスフェラーゼであり、前者はウンデカプレニルニリン酸 ($\text{C}_{55}\text{-PP}$) 合成酵素、後者はデヒドロドリキルニリン酸 ($\text{C}_{80-120}\text{-PP}$) 合成酵素である。細菌、*Paracoccus denitrificans* のE型鎖延長反応を触媒する酵素、デカプレニルニリン酸合成酵素も活性発現に界面活性剤の添加が必須である。

図2 プレニルトランスフェラーゼに共通な配列

- A. ヒナドリ肝臓の FPP 合成酵素の活性部位の一次構造⁽¹⁰⁾、○で囲んだアミノ酸はラットの酵素と同一であることを示す。
- B. 酵母のへへキサブプレニルニリン酸合成酵素 (HPS) とラット、ヒト、酵母のFPP合成酵素 (FPS) の推定一次構造より得られたプレニルトランスフェラーゼの共通な配列部位⁽¹²⁾、大腸菌は II の部位と相同の配列を持っている。

2. プレニルトランスフェラーゼ反応の生成物の鎖長を決定する因子

Micrococcus luteus のソラネシルニリン酸 (C_{45} -PP) 合成酵素の生成物の鎖長が反応液中の Mg^{2+} イオン濃度に依存しており、濃度が高いほど生成物の鎖長が長いほうにシフトするということが、粗酵素を用いた研究で知られていたが⁽⁴⁾、原因は不明であった。このほど酵素の純化に成功したので、この現象の原因を追求した結果、 Mg^{2+} 濃度を一定にして、IPP の濃度を变化させた場合でも同様の現象がみられ、IPP 濃度が高いほど、生成物の鎖長は長くなることがわかった。一方、プライマー基質、FPP の濃度による変動は Mg^{2+} 濃度が低いときにのみ観測されることがわかった。これらのことから生成物の鎖長が変動する現象は、おもに IPP と Mg^{2+} の複合体の濃度に起因することが明らかとなった⁽⁵⁾。この現象は C_{45} -PP 合成酵素のみならず、大腸菌の C_{40} -PP 合成酵素やラットのデヒドロドリキルニリン酸合成酵素など、ほとんどすべてのポリプレニルニリン酸合成酵素に共通してみられ、プレニルトランスフェラーゼ反応の真の基質としての IPP- Mg^{2+} 複合体の濃度が酵素反応生成物の一定鎖長を維持する重要な因子となっていることが明らかとなった。ラットミクロゾームのデヒドロドリキルニリン酸合成酵素の場合は添加する界面活性剤の種類とその濃度によっても生成物の鎖長が大きく変動することがわかった⁽⁶⁾が、これはミクロゾーム膜に結合している酵素の近傍のリン脂質の構成が界面活性剤によって変化するためと考えられる。

3. プレニルトランスフェラーゼの構造解析

プレニルトランスフェラーゼの酵素反応機構をより詳細に探るためには、酵素自身の構造と触媒活性との関係を知ることが不可欠である。プレニルトランスフェラーゼのなかで、細菌から高等生物に至るまで普遍的に存在している FPP 合成酵素は最もよく研究がなされており、ヒナドリ肝臓の酵素はすでに結晶化されている⁽⁷⁾。

Rilling らのフォトアフィニティラベル法などによる研究から明らかとなったこの酵素の活性部位の一次配列を図 2 A に示すが、この配列はクローニングによって明らかとなった、ラット⁽⁸⁾、酵母⁽⁹⁾、ヒト⁽¹⁰⁾の FPP 合成酵素

にも高い相同性で保存されている。大腸菌の FPP 合成酵素⁽¹¹⁾や酵母のヘキサプレニルニリン酸合成酵素⁽¹²⁾をコードする DNA もクローニングされた。図 2 B に示すように、DNA の塩基配列より推定された一次構造からプレニルトランスフェラーゼに共通ないくつかの配列が指摘されているが、とくに GXXXFQ (L, I or V) XDDXLD の構造 (図 2 の II の部位) はヒトから大腸菌までよく保存されている共通な構造であり、基質結合部位である可能性が高い。著者らは、中等度好熱性細菌、*Bacillus stearothermophilus* のプレニルトランスフェラーゼの遺伝子をクローニングし、耐熱性のプレニルトランスフェラーゼを用いた構造解析の研究を行っているところである。

- (1) 古山種俊, 小倉協三: 現代化学 1990, 42.
- (2) H. Fujii, T. Koyama and K. Ogura: *J. Biol. Chem.*, **257**, 14610 (1982).
- (3) H. Fujii, T. Koyama and K. Ogura: *FEBS Lett.*, **161**, 257 (1983).
- (4) H. Fujii, H. Sagami, T. Koyama, K. Ogura and S. Seto: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **96**, 1648 (1980).
- (5) S. Ohnuma, T. Koyama and K. Ogura: 未発表データ.
- (6) S. Matsuoka, H. Sagami, A. Kurisaki and K. Ogura: *J. Biol. Chem.*, **266**, 3464 (1991).
- (7) B. C. Reed and H. C. Rilling: *Biochemistry*, **14**, 50 (1975).
- (8) C. F. Clarke, R. D. Tanaka, K. Svenson, M. Wamsley, A. M. Fogelman and P. D. Edwards: *Mol. Cell. Biol.*, **7**, 3138 (1987).
- (9) M. S. Anderson, J. G. Yarger, C. L. Burck and C. D. Poulter: *J. Biol. Chem.*, **264**, 19176 (1989).
- (10) B. T. Sheares, S. S. White, D. T. Molowa, K. Chan, V. D.-H. Ding, P. A. Kroon, R. G. Bostedor and J. D. Karkas: *Biochemistry*, **28**, 8129 (1989).
- (11) S. Fujisaki, H. Hara, Y. Nishimura, K. Horiuchi and T. Nishino: *J. Biochem.*, **108**, 995 (1990).
- (12) M. N. Ashby and P. A. Edwards: *J. Biol. Chem.*, **265**, 13157 (1990).
- (13) D. N. Brems and H. C. Rilling: *Biochemistry*, **18**, 860 (1977).