

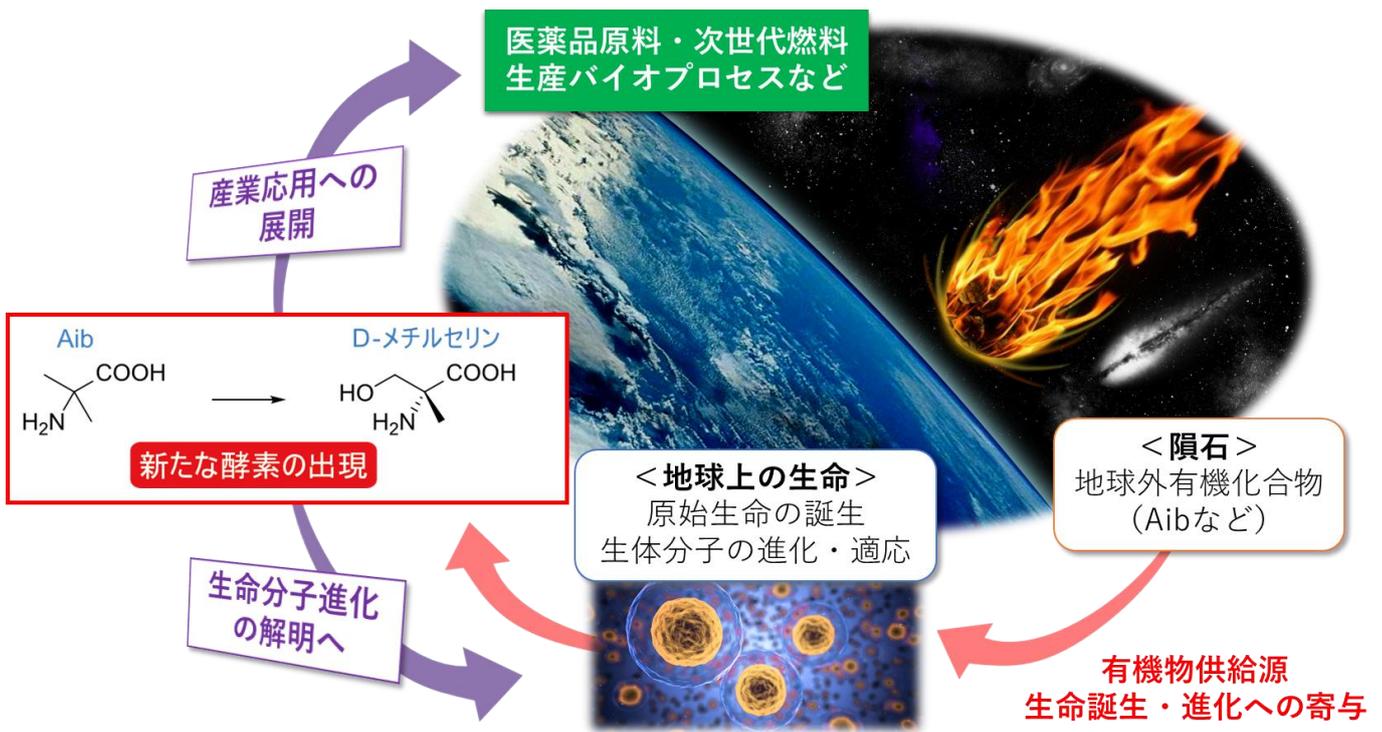
地球外有機化合物に対する微生物代謝の解明から全く新規な酵素系を発見

—生命分子進化の理解や産業応用に期待—

概要

● 京都大学大学院農学研究科 小川順 教授と富山県立大学 日比慎 准教授は、京都大学大学院農学研究科 原良太郎 特定准教授、竹内道樹 同特定助教、水谷公彦 同助教、植田充美 同教授、青木航 同助教、京都大学生存圏研究所 三上文三 特任教授らの研究グループとともに、隕石によって飛来する地球外有機化合物の一つ 2-アミノイソ酪酸 (Aib) の微生物代謝を初めて明らかにし、その初発酵素として、高い酸化活性種を生成する全く新規な金属タンパク質複合体を発見しました。また、その特性を明らかにすることで、本酵素系が、有機合成において重要な、不活性なメチル基の効率的かつ選択的な酸化反応を触媒することを確認しました。本成果は、原始地球における生命分子進化の理解に資するものであり、産業的にも重要な知見です。

本研究成果は 2021 年 1 月 4 日、英国科学誌「Communications Biology」にオンラインで掲載されました。



1. 背景

先日、小惑星探査機「はやぶさ2」の地球帰還が大きな話題となりました。地球上には隕石などの飛来を通じて、大量の地球外有機化合物が常に降り注いでいます。リュウグウのような地球近くに存在する小惑星が有機化合物を含んでいれば、これらが地球上に落ち生命の起源に寄与したことを示す強い証拠となります。

2-アミノイソ酪酸 (Aib) はこのような地球外有機化合物の一種です。年間数百キログラムもの Aib が宇宙から飛来しており、地球への地球外有機化合物の供給において主要な役割を果たしてきたと考えられます。地球外有機化合物は非生物由来ですが、地球上にはこれらの有機化合物を栄養源として上手く利用する微生物が存在しています。

我々は Aib を栄養源として利用する放線菌 *Rhodococcus wratislaviensis* を発見し、この放線菌が Aib をいかにして利用するかについて生化学的調査を行いました。

2. 研究手法・成果

放線菌 *R. wratislaviensis* は Aib を唯一の炭素源として生育する能力を持っています。本研究グループは、本放線菌の細胞内のタンパク質をプロテオミクス解析により定量することで、ある遺伝子クラスターにコードされる酵素タンパク質が Aib の利用に関与することを明らかにしました。さらに、これらの酵素の働きにより、Aib からピルビン酸にいたる 5 段階の酵素反応経路を完全に解明することに成功しました (図 1)。

この酵素反応経路の第 1 段階に働く酵素は、Aib モノオキシゲナーゼであり、Aib 分子中のメチル基を選択的に水酸化する活性を示しました。Aib モノオキシゲナーゼは、フェレドキシン還元酵素 (電子伝達ユニット)・Rieske 型フェレドキシン (電子伝達ユニット)・ヘテロ四量体タンパク質複合体 (触媒ユニット) からなる 3 成分モノオキシゲナーゼでした。

また、この Aib モノオキシゲナーゼの触媒ユニットに関して、立体構造を決定することに成功しました。本触媒ユニットは、2 つの非ヘム鉄イオンを含むサブユニットと、1 つの亜鉛イオンを含むサブユニットから構成されており、これまでに報告されたことのないユニークな全体構造を持つ二核非ヘム鉄酵素であることを明らかにしました (図 2)。二核非ヘム鉄酵素は、反応の過程で極めて高い酸化反応性を持つ高原子価鉄-オキソ中間体を生成することが知られています。

さらに、Aib モノオキシゲナーゼの組換えタンパク質を利用した物質変換バイオプロセスを開発しました。このバイオプロセスでは、Aib 分子中に存在する 2 つのメチル基の一方のみを選択的に酸化し、D-メチルセリンを効率的に生産できることを実証しました。D-メチルセリンは医薬品原料としての利用が期待されている重要な光学活性アミノ酸の一種です。

3. 波及効果、今後の予定

本成果は、原始地球における生命分子進化の理解を推し進める発見であると同時に、産業的にも重要な知見です。不活性なメチル基の酸化反応は産業上重要な化学反応ですが、強い酸化力が必要となります。Aib モノオキシゲナーゼは、不活性なメチル基を効率的かつ選択的に酸化できることから、様々な医薬品原料や次世代燃料を生産するためのバイオプロセスに活用できると期待されます。さらに、Aib モノオキシゲナーゼは可溶性組換えタンパク質として異種発現が可能であることから、これまで知られている不活性メチル基酸化酵素と比較して、産業用酵素触媒として利用しやすいといえます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究のうち、京都大学で行われた研究の一部は、新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の支援を受けて実施されました。また、本研究には、NEDO「カーボンリサイクル実現を加速するバイオ由来製品生産技術の開発／データ駆動型統合バイオ生産マネジメントシステム（Data-driven iBMS）の研究開発」で開発中の微生物機能探索ライブラリーが活用されました。

<用語解説>

放線菌：土壤中に広く分布する原核微生物で、放射状に菌糸が生育し孢子を形成する特徴を持ちます。生態系において有機物の分解や物質循環に関わる分解者としての役割を果たしているほか、数多くの抗生物質や工業的に重要な二次代謝産物を生産することが知られています。

プロテオミクス解析：電気泳動やクロマトグラフィーで分離されたタンパク質断片の質量を測定し、タンパク質のアミノ酸配列データと比較して同定することが可能です。この様な手法を用いて、細胞内で発現している全タンパク質を網羅的に解析することをプロテオーム解析といいます。

モノオキシゲナーゼ：分子状酸素の酸素原子を基質に添加する反応を触媒する酸化添加酵素（オキシゲナーゼ）の一種であり、基質に1つの酸素原子を添加するため一原子酸素添加酵素（モノオキシゲナーゼ）と呼ばれます。

バイオプロセス：生物機能を利用して物質を生産する工程のことです。有機化学反応と比較して、環境負荷・二酸化炭素排出・エネルギー使用量を抑制できる利点があり、持続可能社会の構築に大きく貢献すると期待されています。

<研究者のコメント>

Aib モノオキシゲナーゼは、本放線菌が地球外有機化合物である Aib を利用するための鍵となる酵素です。これまで報告の無かったタイプの酸化酵素であり、そのアミノ酸配列からは加水分解酵素の一種であるとされてきました。本成果を契機に、今後、類似の酵素系の発見、機能解明が期待されます。

高い酸化反応性を持ち、かつ選択的に働く新規酵素 Aib モノオキシゲナーゼの発見は、今後酵素触媒の産業利用を拡張していくためのきっかけとなるはずですが、非生物由来の地球外有機化合物に対応するために独自の進化を遂げたことが、他に類を見ないユニークな酵素を生み出す原動力となったのかもしれない。この発見が原始地球における生物進化の理解に役立つ成果であることを期待します。

<論文タイトルと著者>

タイトル A three-component monooxygenase from *Rhodococcus wratislaviensis* may expand industrial applications of bacterial enzymes (微生物酵素触媒の産業利用を拡張しうる放線菌 *Rhodococcus wratislaviensis* 由来の3成分モノオキシゲナーゼ)

著者 Makoto Hibi, Dai Fukuda, Chihiro Kenchu, Masutoshi Nojiri, Ryotaro Hara, Michiki Takeuchi, Shunsuke Aburaya, Wataru Aoki, Kimihiko Mizutani, Yoshihiko Yasohara, Mitsuyoshi Ueda, Bunzo Mikami, Satomi Takahashi and Jun Ogawa

掲載誌 Communications Biology

DOI <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01555-3>

< 参考図表 >

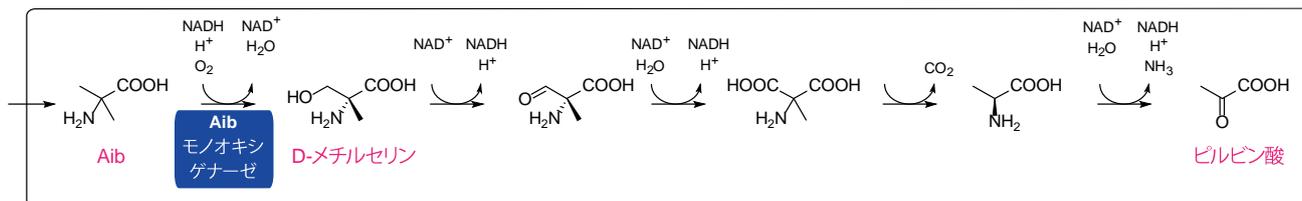
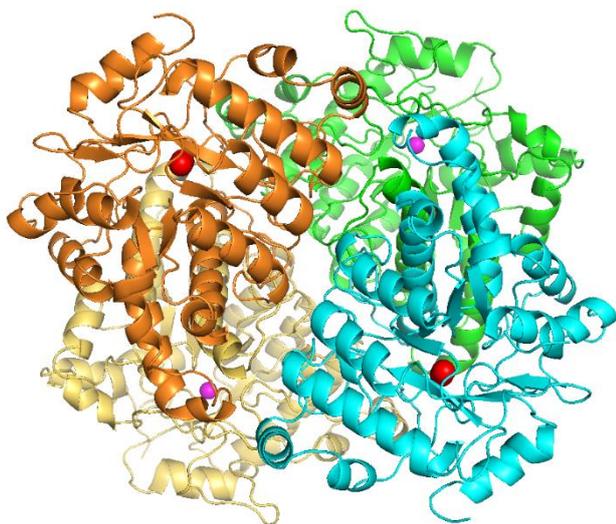


図 1 : 放線菌 *Rhodococcus wratislaviensis* における 5 段階の酵素反応経路による Aib の変換

ヘテロ四量体タンパク質複合体の全体構造



二核非ヘム鉄活性中心の構造

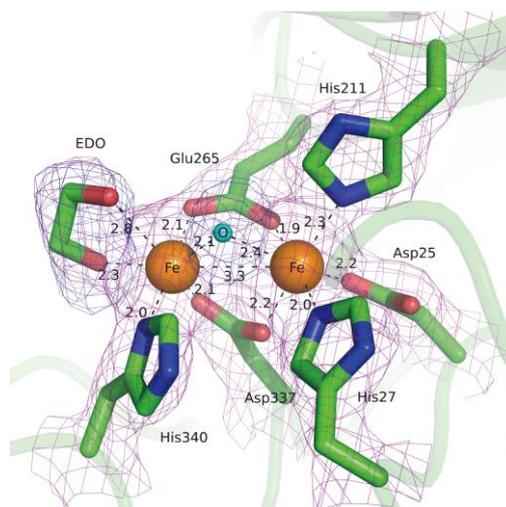


図 2 : Aib モノオキシゲナーゼの触媒ユニットの立体構造