

Thermus thermophilus のリジン生合成におけるアミノ酸キャリアタンパク質の発見

The discovery of the carrier protein on lysine biosynthesis of *Thermus thermophilus*

堀江 暁¹、富田 武郎¹、高 ひかり²、峯木 礼子²、藤村 務²、西山 千春²、
葛山 智久¹、西山 真¹ (¹東大・生物生産工学研究センター、²順大・院医)

Akira Horie¹, Takeo Tomita¹, Hikari Taka², Reiko Mineki², Tsutomu Fujimura²,

Chiharu Nishiyama², Tomohisa Kuzuyama¹, Makoto Nishiyama¹

(¹Biotechnol. Res. Center, Univ. of Tokyo, ²Grad. Sch. of Med., Juntendo Univ.)

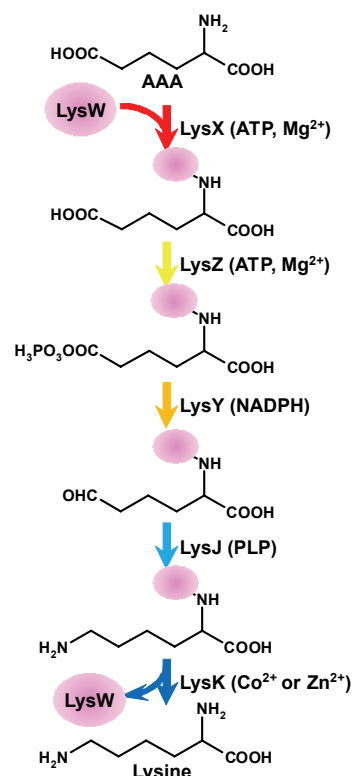
e-mail: aa076124@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

高等動物にとって必須アミノ酸であるリジンの生合成経路としては、ジアミノピメリン酸 (diaminopimelate; DAP) を経由する DAP 経路と、 α -アミノアジピン酸 (α -aminoadipate; AAA) を経由する AAA 経路が知られている。一般にバクテリアは DAP 経路で、酵母やカビは AAA 経路でリジン生合成を行うことが知られていたが、我々は高度好熱菌 *T. thermophilus* はバクテリアでありながら AAA を経てリジンを生合成することを明らかにした。また、その生合成酵素のアミノ酸配列相同性から、この経路の後半部分 (AAA からリジンへの変換) は既知の AAA 経路とは全く異なり、アルギニン生合成経路に類似していることが推測された。本研究は、この生合成経路後半部分の全容を解明し、アミノ酸生合成経路の進化に関する知見を得ることを目的とする。

大腸菌においてリジン生合成酵素 LysW、LysX、LysZ、LysY、LysJ および LysK を発現させ、精製酵素を用いて AAA を基質として反応を行ったところ、リジンが合成されることが分かった。次に、生合成経路の中間体の構造を同定するため、LysX ないし LysJ の段階まで反応が進行した中間体を蓄積する組成の反応溶液を調製し、LysW 誘導体と相当すると思われるタンパク質を抽出した。このサンプルを TOF-MS 分析した結果、それぞれのバンドにおいて LysW の C 末端に 1 分子の AAA ないしリジンがアミド結合していることが確認された。さらに LC/MS 分析を行ったところ、いずれの中間体においても LysW の C 末端 Glu54 の側鎖に中間体アミノ酸が結合していることが明らかになった。

また、LysX の活性検出を試みたところ、LysX は LysW および AAA をそれぞれ特異的に基質として認識することが明らかになった。一方、LysW の代わりとしてグルタミン酸を基質としないことから、LysX が LysW の本体構造を強く認識していることが示唆された。さらに、LysK の反応における基質アナログを用いた阻害実験からも、LysW の本体構造が LysK により強く認識されることが示唆された。これらの結果は、LysW が中間体アミノ酸の carrier protein として働いていることを示している。

以上の知見から、*T. thermophilus* のリジン生合成経路においては、LysW の C 末端グルタミン酸側鎖に付加することによって α -アミノ基が保護された AAA が、リジンへと変換されるという全く新規なアミノ基保護システムが示された。それだけでなく、LysW の本体構造が本経路の各酵素に強く認識されることから、LysW は脂肪酸代謝に関与する ACP (acyl carrier protein)、nonribosomal peptide synthesis に関与する PCP (peptidyl carrier protein) に続く、新たな carrier protein として機能していることが強く示唆される。



AAA からリジンへの変換スキーム