

有用ポリマー合成酵素の構造機能解析

Structure-function analysis of polymer synthases

立命館大学生命科学部 松村浩由

トランスポリイソプレン (TPI) ポリマーは陸上高等植物中で産出される天然ゴムの一種で、それらを抽出しバイオマスエラストマーを生産できれば、シンプルでエネルギー効率に優れた生産法となる。なかでも落葉高木のトチュウは、組織内に著量の TPI を蓄積し、温帯性の耐乾性樹木のため荒廃地への大規模植林が容易であるため、工業的な利用価値が高い。トチュウ TPI の化学的性質としては、分子量 100 万 Da を超える合成化学では不可能な巨大分子であること、トランス選択性が高く、分子量分布が狭い、加工や修飾がしやすいといった特徴を持つ。また古くから電線用絶縁体や整形外科用装具材料として、最近でもゴルフボールや 3D プリンター用フィラメントとして既に工業的に利用されている。

一方で、トチュウ組織内に蓄積する TPI 量は、製造コスト・販売価格の観点から十分ではない。従って、トチュウ内での TPI の蓄量を増やすことや、TPI 分子量とその分布を調節することによる新しい価値の付与などが求められる。しかし、これまでそのような改良をするための基盤情報、つまり TPI 生合成の分子機構は未解明であった。

このような状況のなか、最近、長鎖 TPI ポリマーを合成する酵素 (TPT) の候補遺伝子が同定された。そこで本研究では TPT の解析を行い、それと並行して短鎖 TPI (分子量数 100Da 程度) を合成する酵素 (FPS) の解析を行った。これら二種の酵素は、触媒する化学的反応は同一で、アミノ酸配列の相同性も 80%以上と高い。にもかかわらず、生成物である TPI の分子量は数千倍の違いとなる。トチュウ TPT および FPS の候補遺伝子をクローニングし、大腸菌での発現・精製を行い、機能と構造を解析した。解析の結果、TPT と FPS は互いに二量体で存在していることが分かり、それぞれの単量体の立体構造は類似していた。これは、両酵素が化学的に同一の反応を触媒することと合致している。しかし、両酵素の二量体構造は大きく異なっていた。TPT の二量体構造は比較的コンパクトな箱形をしていて、分子内から分子外に続くトンネルがあった。一方で、FPS の二量体構造はねじれて広がった形をしており、そのトンネルは隣接分子に塞がれていた。このことから「TPT はコンパクトな箱形の二量体を形成することでトンネルを作り、そこから TPI を連続して排出できるため、巨大分子量 TPI を合成できているのでは？」と推測するに至った。「トンネルがあるかないか」だけが巨大 TPI 合成の鍵であるとすれば、FPS 型の二量体構造を TPT 型にしてトンネルを形成すれば、長鎖 TPI ポリマーを合成する酵素が作れるかもしれない。FPS は、TPT とは違って全ての生物に存在し、耐熱性の高いものや酵素反応速度の高いものなどがある。とすれば、TPT にそうした特性を付与できる可能性もある。そこで、立体構造情報をもとに「TPI 型⇔FPS 型の二量体構造の人為的な操作」に挑戦してみた。その結果、TPT 型⇒FPS 型の二量体構造の操作は可能であることが分かった。

天然ゴムの生合成機構は生化学の七不思議の一つと言われ、そのメカニズムの多くは未解明である。本講演では、上述した解析からみえてきた新しい TPI 合成酵素の創製の可能性について議論したい。