

XB113

ゲノム情報を基盤とした超好熱菌代謝経路の解明

(京大 工学研究科) ○跡見 晴幸*

【はじめに】

近年の塩基配列決定技術の迅速化に伴い、膨大な量の塩基配列情報が蓄積している。既に真核生物 122 種、細菌 964 種、始原菌(アーキア) 71 種について全ゲノム塩基配列が公開されており、現在も 5,000 種以上の生物に対してゲノムプロジェクトが進行中である。一般に1つのゲノム上に存在する遺伝子のうち、半数以上は一次構造からその機能は推定できない機能未知遺伝子である。これら機能未知遺伝子の機能解明はポストゲノム研究の最重要課題の1つであることは言うまでもない。

【超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis*】

超好熱菌とは一般に至適生育温度が 80°C以上の微生物として定義されている。*Bacteria* に分類される超好熱細菌も一部存在するが、大半は *Archaea* に分類される超好熱始原菌である。

我々は超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* の全ゲノム塩基配列を決定し、本菌ゲノム上に 2,306 個の遺伝子が存在することが判明した1)。これらのうち約半数が機能未知遺伝子であった。我々はゲノム情報から予想される本菌の代謝経路と本菌の実際の代謝特性を比較しながら missing gene (あるべき酵素遺伝子がゲノム上に見当たらない)、redundant gene (重複遺伝子)、lonely gene (代謝上孤立している遺伝子)などの解析を進めることにより、様々な新規酵素や代謝経路を同定している2)。

【始原菌における補酵素 A 生合成経路】

始原菌のゲノム情報を比較すると、脂質合成経路(メバロン酸経路)やニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)、フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)、補酵素 A (coenzyme A, CoA)などの補酵素の生合成経路はいずれも不完全である。我々は最近 CoA 生合成経路の missing gene (pantothenate synthetase, PS および pantothenate kinase, PANK)に着目してそれらの同定を試みた。PS は ATP 依存的に pantoate と β -alanine の縮合反応を触媒し、pantothenate を生成する。PANK は pantothenate のリン酸化を触媒し、4'-phosphopantothenate が生成する。比較ゲノム的手法により、*T. kodakaraensis* における PANK 候補遺伝子として4種の遺伝子が同定できた。それぞれの発現産物を解析した結果、TK2141 タンパク質

のみが PANK 活性を示した。しかしながらさらなる解析により本酵素は pantothenate よりも pantoate に対する活性が高く、pantoate kinase (PoK)であることが示唆された。ゲノム上の有無が TK2141 ホモログと連動する遺伝子を探索したところ、TK1686 が同定され、翻訳産物を解析した結果、phosphopantothenate synthetase (PPS) 活性を示すことが判明した。我々はまた *T. kodakaraensis* の TK2141 (PoK)、TK1686 (PPS) 遺伝子の破壊株をそれぞれ作製し、得られた各破壊株の増殖特性を評価した。その結果、CoA 存在下では両破壊株は宿主株と同等の生育を示したが、CoA 非存在下では増殖が観察されず、CoA 要求性を示した。このことから TK2141、TK1686 遺伝子はともに *T. kodakaraensis* における CoA 生合成に必須であり、PoK/PPS による経路が唯一の CoA 生合成経路であることが遺伝学的に証明された。PoK/PPS ホモログが始原菌ゲノムに広く分布していることから、始原菌は細菌や真核生物とは異なり、pantothenate を介さずに CoA を合成することが明らかとなった3)。

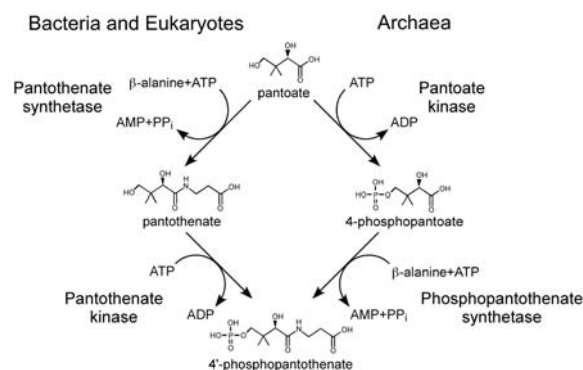


図. 真核生物・細菌および始原菌の CoA 生合成経路における pantoate から 4'-phosphopantothenate までの変換経路。

【参考文献】

- 1) Fukui et al. Genome Res. 15 (3), 352–363 (2005).
- 2) Sato et al. Science 315 (5814), 1003–1006 (2007).
- 3) Yokooji et al. J. Biol. Chem. 284 (41), 28137–28145 (2009).

*連絡先 E-mail: atomi@sbchem.kyoto-u.ac.jp