

好熱性古細菌 *Sulfolobus* に特徴的なカルジトールの環化に関わる基質特異性の著しく緩い酵素の存在の可能性

Possibility of substrate promiscuity at cyclase enzyme of calditol carbocycle from carbohydrate in *Sulfolobus acidcaldarius*

山内 敬明 [1]; 鎌田 倫輔 [1]; 横山 祐介 [1]; 村江 達士 [2]

Noriaki Yamauchi[1]; Norisuke Kamada[1]; Yuusuke Yokoyama[1]; Tatsushi Murae[2]

[1] 九大院理・地球惑星; [2] 九大・理・地惑

[1] Earth and Planetary Sci., Kyushu Univ.; [2] Earth and Planetary Sci, Kyushu Univ.

<http://orge.geo.kyushu-u.ac.jp>

古細菌は 16SrRNA の塩基配列による分子系統樹上で、真核生物や真性細菌とは異なる第三の界をなし、なかでも好熱性古細菌は生命誕生の時期の原始地球の環境との関連からも、生物の起源を知る手がかりの一つとなる生物とされ、生化学から地球科学に至る広い分野で興味を持たれている。好熱性古細菌の大きな特徴は膜脂質が通常生物に対しグリセロールに関して対掌体で、疎水基がイソプレノイド鎖で、これがエーテル結合でグリセロールと結合している構造をもち、さらに2個の飽和イソプレノイド鎖が末端同士で結合した大環状のエーテル脂質であることである。この膜脂質の構造は好熱好酸性古細菌の耐熱耐酸性の要因の1つと思われる。さらに、主要な一群である *Sulfolobus* においては、特徴的な炭素環化合物であるカルジトールを含む GDCT (glyceroldialkylcalditol tetraether) が膜脂質の主要構成成分である。カルジトールの構造は特徴的な炭素五員環構造にグリセロールがエーテル結合しており、環形成とエーテル結合が生合成のどの段階でどのように形成するのか興味あるところである。

炭水化物を原料とし、炭素環化合物を形成するという点で、カルジトール生合成系は、芳香族アミノ酸生合成系、ホバノイド末端に多官能基性シクロプロパン骨格をもった物質の生合成、放線菌の代謝産物の炭素五、六員環化合物の生合成、ミオイノシトール-1-リン酸合成酵素の反応などに見られるような、多くの生物で見られる注目すべき反応系を持っているものと思われる。ごく最近、Gambacorta らがカルジトール生成の反応機構に関する研究を報告した。私達も重水素標識グルコースを用いて、カルジトールの生合成を詳細に解析し、カルジトールが、グルコースの1位と5位で結合し環を作り、その後グリセロールとエーテル結合するという経路を示唆する結果を得た。今回、グルコースの4位からカルジトールへの立体反転の詳細を探ること、またエーテル結合の形成のメカニズムを探る端緒をつくることを目的とし、4位標識体グルコース、ガラクトース、立体特異的重水素標識グリセロールの標識の追跡を行なった。

1 グルコースの4位からカルジトールへの立体反転について

4位標識体グルコース、ガラクトースおよび [3,4-2H₂]glucose を合成し、標識化合物 (1 g) を *Sulfolobus acidcaldarius* 培地に添加 (11培地に1g) して培養を行った (pH 2.75, 7~8 days)。集菌後、脂質抽出と加水分解により GDCT を取り出し精製し、さらにアセチル化して、¹H NMR で生成物を比較した。4位標識グルコースの標識はすべてカルジトール4位に取り込まれ、35%の取り込みが見られた。一方ガラクトース標識体も22%, 28% (run 1 and 2) が取り込まれ、これはガラクトースも本環化反応の基質となる可能性が示唆された。もっともこれからだけでは、グルコース-ガラクトースの異性化が速やかに進行している可能性も否定はできない。また [3,4-2H₂]glucose の実験では38%, 41%の重水素取り込みがあり、3位と4位の取り込みに関し有意な差は見られなかった。一方グルコースの3位異性体であるグロースの重水素標識体 (の重水素) は全く取り込まれなかった。好熱性古細菌ではリン酸化を経ない modified Entner-Doudoroff (modified ED) 経路が解糖系としてはたらいっている。この間でグルコースとガラクトースに対応するヘキソース4位の立体化学をほとんど区別せず化合物を生成する酵素が発見されており、同様にヘキソース4位立体化学に対し認識の緩い“環化酵素”が存在していて、カルジトールの炭素環を形成するのではないかという可能性を示していると思われる。

2 標識グリセロールの取り込みについて

[1,1-2H₂]glycerol およびラセミ体 ([1,1- or 3,3-2H₂]glycerol) 標識グリセロールの取り込み実験によりカルジトールのグリセロール部位の由来とエーテル化の知見が得られるかと期待したが、意に反してグリセロール部位は重水素の取り込みがない一方、炭素環部分3位水素部位に特異的に重水素が取り込まれた。この標識部位の解析とグルコースの標識実験の結果、modified ED 経路の存在、さらには古細菌のグリセロール代謝を考えると、グリセロールはグリセロール-1-リン酸から短段階でピルビン酸に速やかに変換された後、modified ED 経路と、この間でグルコースとガラクトースを区別しない古細菌特有の KDG-aldolase 反応を経てグルコースに高効率で再構成されることを強く示唆する結果を得た。