

普遍的な酵素の新しい機能の発見
～銅アミン酸化酵素はユニークな2段階反応によりアルカロイドを分解する～

研究成果のポイント

1. 生命活動において重要な生理活性物質であるアルカロイドの環状イミンを分解する微生物と環状イミン分解酵素を初めて発見しました。
2. 普遍的な銅アミン酸化酵素(CAO)が、ユニークな2段階反応で環状イミンを分解することを明らかにしました。
3. 生体内におけるCAOの未知の役割発見につながる可能性がある成果です。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 小林達彦教授、永久保利紀大学院生(現, 研究員)、熊野匠人助教らは、兵庫県立大学 太田雄大特任講師(現, 山口東京理科大学 准教授)との共同研究により、銅アミン酸化酵素(CAO)が、これまでに類を見ない新しい機能をもつことを明らかにしました。

アミン酸化酵素は、生体内でアミン(-NH₂)を酸化してアルデヒド(-CHO)に変換する、生命活動に欠かせない反応を担っています。本研究では、アミン酸化酵素の一種であるCAOが、環状イミン(-CH=N-)の分解にも関わることを明らかにしました。さらに、詳細な解析結果に基づいて、CAOが、①環状イミンの加水分解、②その反応産物であるアミンの酸化、という2段階の反応を立て続けに触媒することで環状イミンを分解するという新たな酵素反応のメカニズムを提唱しました。

本研究の成果は、生体内におけるCAOの未知の役割の発見につながる可能性があります。

- * 本研究の成果は、Nature Communications誌で2019年1月24日(英国時間)に公開されました。
本研究は、東京都健康安全研究センター 荒金真佐子博士、中村耕氏らの協力を得て行いました。

研究の背景

古くから、植物が作る生理活性物質の一部は「アルカロイド」と呼ばれてきました。そのアルカロイドのなかには、3つの環からなる特徴的な骨格をもつ「β-カルボリン」を含むものがあります。それらのβ-カルボリンアルカロイドは、動物、植物、微生物を問わず、多種多様な生物から発見されています。β-カルボリンアルカロイドの多くは、様々な生理活性をもつことも知られています。たとえば、血圧降下剤であるレセルピンは、インドジャボクから単離されて以来、天然由来の医薬品として使われてきました。しかし、ひとたび生物によって合成されたβ-カルボリンアルカロイドが、自然界でどのように分解されているのかについては、謎のまま残されていました。

本研究グループはβ-カルボリンアルカロイドの分解代謝経路を解明するために、最も単純な構造をもつβ-カルボリンアルカロイドの一つであるハルマリンに着目し、この化合物を分解する微生物の探索に取り組みました。

研究内容と成果

ハルマリンは、幻覚作用や抗うつ作用を示すユニークな化合物であり、様々な生物によって合成されます。なかでも、ハマビシ科のハルマラ *Peganum harmala* という植物は、その根にハルマリンを多く蓄積することが知られています。そこで、本研究グループは *P. harmala* の根付近の土壌に、「ハルマリンを分解し栄養源にする微生物」が生息していると考えました。そして、実際にその土壌中から、放線菌の一種であるハルマリン代謝微生物(C-4A 株)を単離することに成功しました。次に、ハルマリン分解反応の最初の段階を担う酵素を C-4A 株から精製したところ、その酵素が銅アミン酸化酵素(CAO^{注1})であることが分かりました。研究グループは、その酵素を HarA と名付け、HarA が触媒する反応のメカニズムの解明に取り組みました。その結果、①まず HarA が H₂O 分子を活性化してハルマリンの環状イミン^{注2} を加水分解し、②その結果生じたアミンをアミン酸化活性によりアルデヒドに変換する、という「2 段階」の反応メカニズムで、HarA がハルマリンを分解していることが分かりました。さらに、この 2 段階反応を触媒する活性が、HarA だけでなく、大腸菌の CAO にも存在することを発見しました。

これまで、CAO は、ビロチン補酵素^{注3} と呼ばれるユニークな補酵素を用いて「アミン(-NH₂)を酸化しアルデヒド(-CHO)に変換する活性」を有することが知られていました。しかし、本研究で見出した「イミン(-CH=N-)を開裂しアルデヒド(-CHO)とケトン(-C=O)に変換する活性」は、全く報告がありませんでした。ハルマリン代謝微生物 C-4A 株は、CAO のイミン分解活性を利用して抗菌活性のあるハルマリンを分解するとともに、環状イミン中の窒素原子を NH₃ に変換し、栄養源としていると考えられます。

今後の展開

アミン酸化酵素は、生命活動に欠かせない重要な酵素です。例えば、ヒトの体内では、アミン酸化酵素が神経伝達物質ドーパミン(アミンの一種)を酸化して、その量を調節しています。CAO もそのようなアミン酸化酵素の一種であり、ヒトだけでなく植物や微生物にも広く分布していますが、その役割には不明な点も多く存在します。したがって、本研究の成果が、それら未知の CAO の役割を見つける手がかりとなるかもしれません。また、本研究が、β-カルボリンアルカロイドや環状イミンの代謝を介した新たな植物-微生物間相互作用の扉を開く鍵となることも期待できます。

参考図

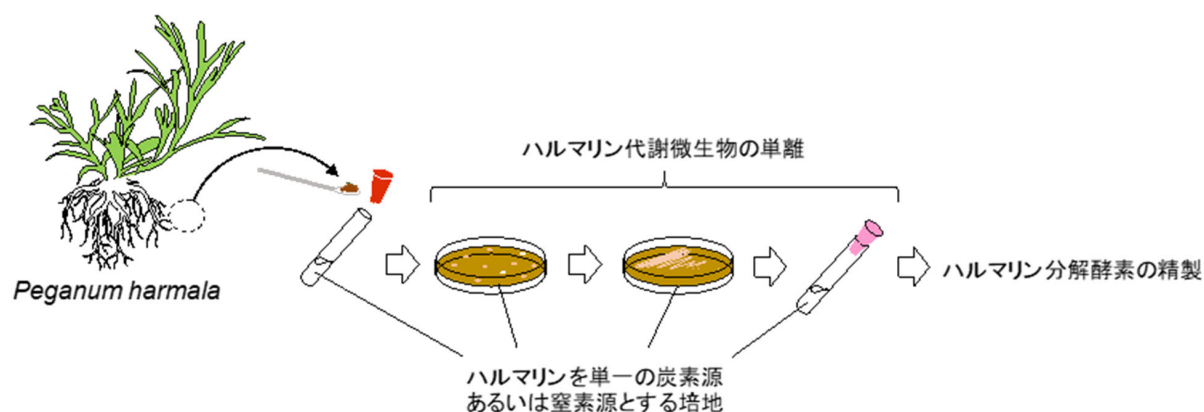


図 1 ハルマリン代謝微生物の単離

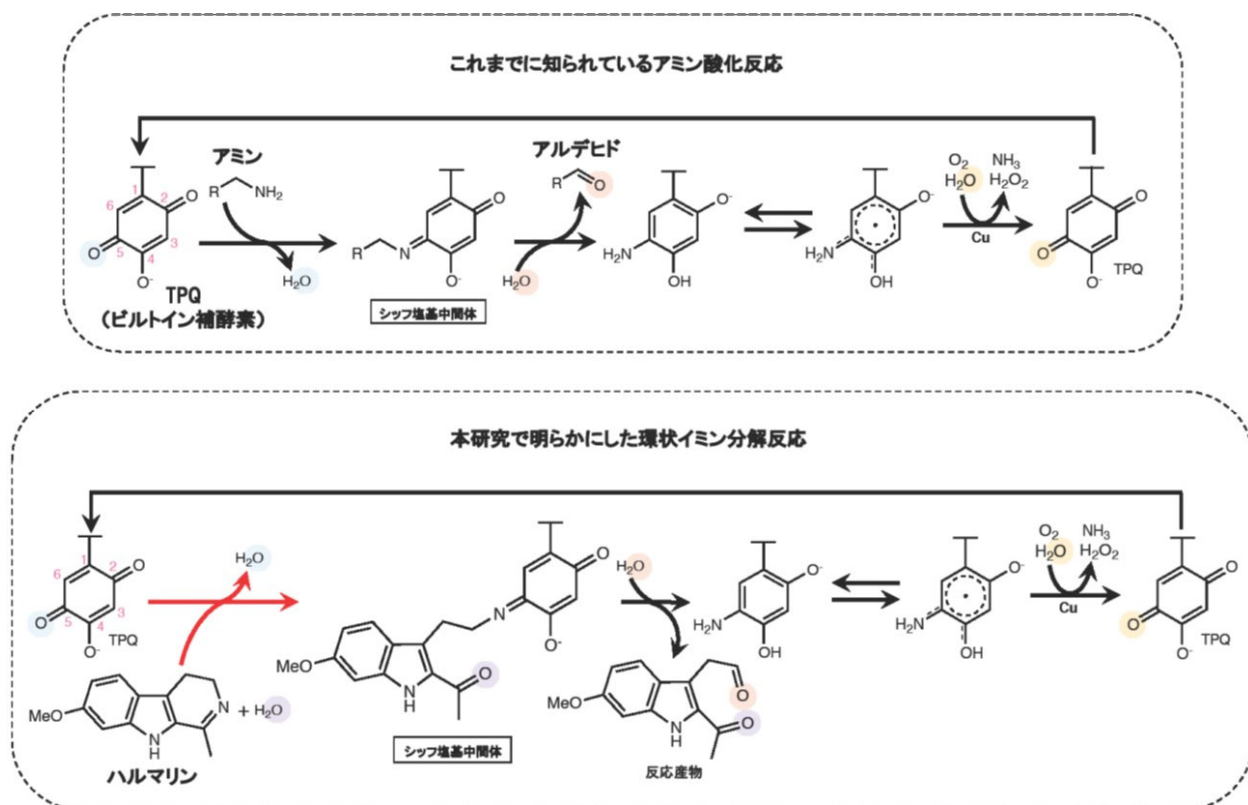


図 2 CAO の反応機構

既知のアミン酸化反応(上段)と本研究で明らかにしたハルマリン分解反応(下段)の反応機構の概要図。どちらも Schiff 塩基中間体の形成を経るが、ハルマリン分解反応のみ基質の加水分解(赤矢印)が起こる。

用語解説

注 1) 銅アミン酸化酵素

銅アミン酸化酵素(CAO)は、TPQ と銅イオンを補因子として用いることで、アミン(-NH₂)をアルデヒド(-CHO)に酸化する酵素である。この反応の過程で、アミンの N 原子は、アンモニア(NH₃)に変換される。また、アミンから引き抜かれた電子は最終的に酸素分子(O₂)に受容され、過酸化水素(H₂O₂)が生じる。

注 2) 環状イミン

環状につながったイミン(-CH=N-)を有する化合物。一般的に、環状イミンは直鎖状イミンよりも加水分解されにくい。環状イミンを含む化合物は自然界に広く存在しており、抗生物質や毒(ヒアリなど)に見出されることが多い。

注 3) ビルトイン補酵素

補酵素の一種。酵素のなかには、その活性に補酵素と呼ばれる分子を必要とするものがある。補酵素の多くは、酵素とは別に合成され、その後、酵素と結合することで機能する。一方、ビルトイン補酵素も広義では補酵素の一種だが、その形成メカニズムはその他の補酵素とは大きく異なる。ビルトイン補酵素は、酵素を構成するアミノ酸の一部が、翻訳後修飾を受けることで形成される。つまり、酵素から見れば、その他の補酵素が「外からの持ち込み」であるのに対して、ビルトイン補酵素は文字通り「作りつけ(ビルトイン)」である。CAO は、特定のチロシン残基に由来するトパキノン(TPQ)をビルトイン補酵素として触媒反応に利用している。ビルトイン補酵素はこれまでに数種類が発見されているが、TPQ は最も幅広い生物種に分布しているビルトイン補酵素である。

掲載論文

【題名】 Copper amine oxidases catalyze the oxidative deamination and hydrolysis of cyclic imines
(銅アミノオキシダーゼは環状イミンの酸化的脱アミノ化および加水分解を触媒する)

【著者】 Toshiki Nagakubo, Takuto Kumano, Takehiro Ohta, Yoshiteru Hashimoto, Michihiko Kobayashi

【掲載雑誌】 Nature Communications
doi.org/10.1038/s41467-018-08280-w

問合わせ先

小林 達彦 (こばやし みちひこ)

筑波大学 生命環境系 教授

〒305-8572 茨城県つくば市天王台1-1-1