

講演番号：2A25a10

講演日時：3月16日 10:49～ 共通講義棟北 A25 会場

天然ゴム生合成機構におけるゴム粒子の重要性

Rubber particle is a key factor for *cis*-prenyltransferases to exhibit natural rubber biosynthetic activity

石井 智樹¹、末永 美樹¹、山下 哲²、山家 史大¹、和氣 駿之¹、小島 幸治¹、山口 晴彦³、井之上 ゆき乃³、伏原 和久³、中山 亨¹、○高橋 征司¹ (¹東北大院工、²金沢大理工、³住友ゴム工業)

Tomoki Ishii¹, Miki Suenaga¹, Satoshi Yamashita², Fumihito Yanbe¹, Toshiyuki Waki¹, Kouji Kojima¹, Haruhiko Yamaguchi³, Yukino Inoue³, Kazuhisa Fushihara³, Toru Nakayama¹, ○Seiji Takahashi¹ (¹Grad. Sch. Eng, Tohoku Univ., ²Col. Sci. & Eng., Kanazawa Univ., ³Sumitomo Rubber Industries LTD.)

パラゴムノキ (*Hevea brasiliensis*) のラテックスより生産される天然ゴム (NR) は優れた物性を有しており、化石燃料由来の多様な合成ゴムが開発されている現代においてもゴム工業に不可欠な天然材料である。ラテックスは乳管細胞の細胞質に相当するが、その中で NR は脂質一重膜に覆われたゴム粒子 (rubber particle, RP) として存在している。NR は分子量 10^6 以上にも及ぶ超長鎖の *cis*-1,4-ポリイソプレノイドであるが、その ω 末端には数個の *trans*-イソプレノイド単位の存在が確認されている。この構造は、全ての真核生物が普遍的に有する糖キャリア脂質であるドリコール (C_{75-120} 程度) と類似であるため、NR とドリコールの生合成機構の関連性が示唆される。一般的に、ドリコールの前駆体 (デヒドロドリキルニリン酸) は、全 *trans* 短鎖プレニルニリン酸であるファルネシルニリン酸 (FPP) に対し、イソペンテニルニリン酸 (IPP) が連続的に *cis* 型重合することで生合成されるが、その反応は ER 膜局在型の *cis* 型プレニル鎖延長酵素 (cPT) によって触媒される。NR 生合成活性は RP から検出されていたため、ER 膜上に存在する cPT によって IPP が重合し、伸長する疎水性ポリイソプレノイド鎖が脂質二重層内に蓄積することで NR を含む RP として出芽するというモデルが想定されていた。パラゴムノキの cPT 相同遺伝子 *HRT1* は、大腸菌異種発現系では活性を示さず、酵母で異種発現させた際は重合活性を示すものの、 C_{100} 程度の生成物しか与えないため、反応場としての RP の重要性が想定された。そこで我々は、コムギ胚芽抽出物を利用した無細胞タンパク質発現系によって、界面活性剤でタンパク質を極力除去したパラゴムノキ由来 RP (WRP) 上へ目的タンパク質を発現させる系を構築した。それにより導入された *HRT1* は、FPP を開始基質として分子量 10^6 以上にも及ぶ NR サイズのポリイソプレノイドを生合成する活性を示し、初めて NR 生合成の機能同定に成功した。NR 生合成における反応場としての RP の重要性を検証するため、レタス等の他の NR 生合成植物由来 cPT をパラゴムノキ WRP に導入したところ、やはり NR と同等のポリイソプレノイド合成活性を示した。これまでの我々の cPT 比較機能解析から、真核生物の長鎖型 cPT の生成物鎖長は、伸長するポリイソプレノイド鎖の疎水的空間への収容様式と酵素触媒回転効率で決定されると推定していた。そこで、出芽酵母とヒトの cPT (DedolPP 合成酵素) を WRP に導入したところ、やはり *HRT1* と同様の分子量分布を示すポリイソプレノイドを生合成した。また、中鎖型 cPT を導入した場合でも、NR サイズの生成物を与えた。以上の結果は、NR を生合成するために特殊化した“NR 生合成酵素”が存在するわけではなく、cPT が RP 上に適切に導入されることが NR 生合成の鍵であることを示唆している。

natural rubber, prenyltransferase, isoprenoid

発表責任者：高橋征司 (takahasi@seika.che.tohoku.ac.jp)