

講演番号：2A34a06

講演日時、会場：3月27日 10:05～ A校舎 34会場

失われた中央代謝系ハブ酵素の発掘—「新規」PEP carboxykinaseの同定とその生物間分布 Identification and characterization of a lost central metabolic enzyme, phosphoenolpyruvate carboxykinase

○千葉 洋子^{1,2}、神川 龍馬^{3,4}、野崎 智義^{2,1} (¹筑波大院・生命環境、²感染研・寄生動物、³京大院・地球環境、⁴京大院・人間環境)

○Yoko CHIBA^{1,2}, Ryoma KAMIKAWA^{3,4}, Tomoyoshi NOZAKI^{2,1} (¹Univ. Tsukuba Life and Env. Sci., ²NIID Para., ³Kyoto Univ. Global Env. Std., ⁴Kyoto Univ. Human and Env. Std.)

【背景・目的】

Phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)はPEP + CO₂、oxaloacetate間の変換反応を可逆的に触媒し、解糖系・糖新生系とTCA回路などの有機酸代謝系をつなぐ中央代謝系のハブ酵素である。PEPCKはoxaloacetateに付与するリン酸基の供給源によって、3種類に分類される。ひとつは無機ピロリン酸(PPi)を用いるPPi-PEPCK (EC 4.1.1.38)、残りのふたつはそれぞれATP, GDPを用いるATP-PEPCK (EC 4.1.1.49)およびGDP-PEPCK (EC 4.1.1.32)である。後者については詳細な解析が進められており、ATP-PEPCKは主に細菌、高等植物に、GTP-PEPCKは多くの真核生物、古細菌および一部の細菌に存在することが知られている。一方、PPi-PEPCKについては1960-70年代にグラム陽性細菌*Propionibacterium freudenreichii*および赤痢アメーバ症を引き起こす原虫*Entamoeba histolytica*から精製されているものの、その後遺伝子は同定されておらず生物間の分布も不明であった。そこで本研究は、PPi-PEPCKの遺伝子同定および生物間の分布を明らかにすることを目的とした

【結果・考察】

PPi-PEPCK活性を指標に*E. histolytica*の細胞破碎からタンパク質を精製したところ、SDS-PAGEにおいて約130kDaを示すタンパク質が得られた。そこで本タンパク質をMS/MS解析により同定したところ、3種類のhypothetical proteinの混合物であることが示された。これらタンパク質は、互いに91%以上のidentityを有した。また、これらタンパク質と40%以上のidentityを有するタンパク質遺伝子が*P. freudenreichii*のゲノム内に存在した。そこでこれらタンパク質を大腸菌にて発現させ精製したところ、確かにPPi-PEPCK活性を示した。

今回同定されたPPi-PEPCKはATP-, GTP-PEPCKや他の既知タンパク質と相同性がなく、また機能ドメイン等も有さないことから、全く新規な酵素タンパク質である。また、*E. histolytica*および*P. freudenreichii*のPPi-PEPCKと40%以上のidentityを示すタンパク質遺伝子は様々な細菌および限られた、しかし系統的に多様な単細胞真核生物に存在することも明らかになった。PPi-PEPCK遺伝子を有する生物の多くはATP-もしくはGTP-PEPCK遺伝子も有する。これら酵素は基本的に可逆であるが、PPiタイプはoxaloacetate生成方向、ATP, GTPタイプはPEP生成方向の反応を好むことから、生物は2種類の酵素を使い分けて中央代謝系の流れを制御していると考えられる。

central metabolism, novel enzyme, phosphoenolpyruvate carboxykinase