

プリン・ピリミジンヌクレオチド生合成系の丸ごと解析

Multilateral analysis of purine and pyrimidine nucleotides biosynthetic pathway

○河合剛太^{1,2}, 田村さと子¹, 角田悟³, 奥田健司³, 岡田潔³, 金川真由美²,
馬場清喜^{2,4}, 中川紀子^{2,4}, 海老原章郎², 三瓶巖一^{2,3}

Gota Kawai^{1,2}, Satoko Tamura¹, Satoru Tsunoda³, Kenji Okuda³, Kiyoshi Okada³,
Mayumi Kanagawa², Seiki Baba^{2,4}, Noriko Nakagawa^{2,4}, Akio Ebihara² and Gen-ichi Sampei^{2,3}

(¹千葉工大・工, ²理研・播磨研, ³電通大・量子物質工, ⁴阪大・院理)

(¹Chiba Institute of Technology, ²RIKEN Harima Institute,

³University of Electro-Communications, ⁴Osaka University)

e-mail: gkawai@sea.it-chiba.ac.jp, sampei@pc.uec.ac.jp

プリンヌクレオチド生合成系は, PRPP を出発材料に IMP を経由し, AMP と GMP を合成する全部で 14 の反応からなる(図1). 一方, ピリミジンヌクレオチド生合成系は, グルタミンやアスパラギン酸などを出発材料に PRPP を取り込んで UMP を合成する 6 つの反応からなる経路である. これらの経路は基本的にほとんどの生物に共通である. 私たちは, これらの生合成系について, 遺伝子発現制御から生化学反応までを多角的に解析し, それらの情報を総合することによって, 代謝システムの仕組み, あるいは形成過程について, 新たな知見を得ることをめざしている.

[遺伝子構成] これらの生合成系において, 酵素タンパク質をコードする遺伝子の存在様式には, 生物種間で多様性が見られる. 例えば, 真正細菌においては, この生合成系の遺伝子はいくつかのオペロンを形成しているが, 集約的に集まっているものや, ゲノム中に分散して存在するものなどさまざまである. また, 真核生物においては遺伝子融合が多く見られる. さらに, プリンヌクレオチド生合成系には類似した反応を触媒する酵素が数多く存在する. たとえば, PurF (glutamine PRPP amidotransferase), PurL (FGAR amidotransferase)および GuaA (GMP synthetase)は, いずれもグルタミンのアミド基の窒素原子の転移反応を行う. これらのことから, これらの経路の遺伝子の形成には, 重複倍加と突然変異, あるいは, 遺伝子融合が関与していると考えられる^{1,2)}. このような生体システムの形成のメカニズムを明らかにするために, これまで主として遺伝子の塩基配列レベルでの解析が進められてきたが, それだけでは, これら遺伝子の互いの関係を理解するためには不十分であった.

[遺伝子発現制御] プリンヌクレオチド生合成系遺伝子の発現制御に関する研究は, 大腸

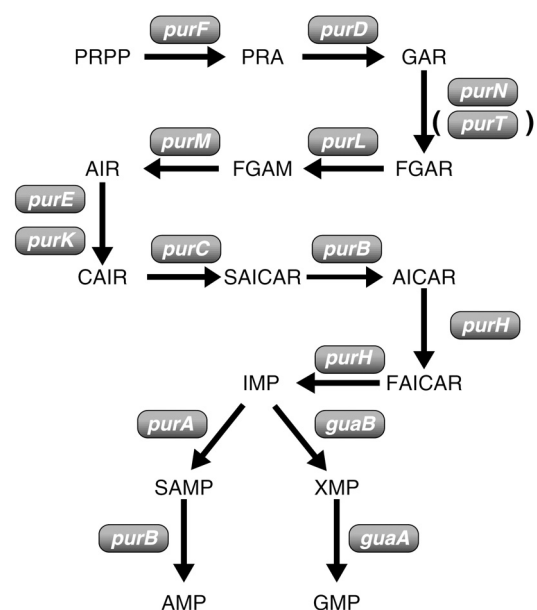


図1. プリンヌクレオチド生合成系

菌と枯草菌の系において先行している。大腸菌では, LacI ファミリーに属するプリンリプレッサー (PurR) と PUR Box (CGCAAACGGTTTCGTC) の相互作用による制御が知られており, この相互作用様式については構造生物学的にも明らかにされている³⁾。一方枯草菌では, 集約型オペロンがアテニュエーションとアクティベーター (PurR) による制御の両方でなされている。また, ピリミジン生合成系においては, やはり大腸菌において研究が進んでいるアテニュエーションによる制御が知られている。

[酵素反応] プリンヌクレオチド生合成系の反応は, すべて C-N 結合の生成であり, すでに述べたように, 系の中に類似した反応が多く見られる。一方, ピリミジンヌクレオチド生合成系はプリンヌクレオチド生合成系と比較するとシンプルであるが, 反応には, プリンヌクレオチド生合成系の反応と類似なものがいくつか見られる。

[酵素反応の制御] プリンおよびピリミジンヌクレオチド生合成系のいずれにおいても, 代謝産物によるフィードバック制御が行われることが良く知られている。プリンヌクレオチド生合成系では, 最終産物である GMP および AMP による初発反応の抑制だけではなく, GMP および AMP は IMP 以降のそれぞれの反応経路を独立に制御し, また, IMP は初発反応を制御している。また, プリンヌクレオチド生合成系は, チアミン生合成系およびヒスチジン生合成系と代謝中間体を共有しており, これらの経路の影響を受ける。ピリミジンヌクレオチド生合成系においても代謝産物である CTP による初発反応の抑制は, 立体構造を含めて良く解析されている。

私たちは, これまでに主として *Thermus thermophilus* HB8 のプリンヌクレオチド生合成系のタンパク質の立体構造解析を進めてきた。すでに, PurD, PurK, PurS の立体構造を決定し, さらに GuaA, PurM, PurL, Gmk について精密化を進めている。さらに, 本年度より放射光システム生物学のテーマの1つとして, 数種類の生物種のプリン・ピリミジンヌクレオチド生合成系タンパク質の立体構造解析をスタートさせている。今後は, 各タンパク質の酵素学的解析, タンパク質間相互作用の物理化学的解析, 細胞内代謝中間体のメタボローム解析なども進め, さらに, DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析も組み合わせて, これらの生合成経路を丸ごと解析し, その働く姿を明らかにしていきたい。

- 1) 遺伝子形成における規則性と偶然性—大腸菌遺伝子からの研究, 溝渕 潔, 細胞工学 Vol. 4, No. 13, 1218-1229 (1985).
- 2) The Organization of the *purl* Gene Encoding 5'-Phosphoribosylformylglycinamide Amidotransferase of *Escherichia coli*, Sampei, G. and Mizobuchi, K., *J. Biol. Chem.* **264**, 21230-21238 (1989).
- 3) Structural comparison of the free and DNA-bound forms of the purine repressor DNA-binding domain, Nagadoi, A., Morikawa, S., Nakamura, H., Enari, M., Kobayashi, K., Yamamoto, H., Sampei, G., Mizobuchi, K., Schumacher, M. A., Brennan, R. G., and Nishimura, Y., *Structure* **3**, 1217-1224 (1995).