

***Thermus thermophilus* のポリアミン代謝系遺伝子と酵素**  
**Genes and Enzymes Involved in Polyamine Metabolism of *Thermus thermophilus* HB8**

大島 泰郎

Tairo Oshima

(共和化工・環境微生物学研究所)

e-mail: [tairo.oshima@kyowa-kako.co.jp](mailto:tairo.oshima@kyowa-kako.co.jp)

ポリアミンはアミノ基を多く含む塩基性の低分子の非環状有機化合物の総称で、細胞増殖の調節因子です。細胞内では濃度が厳密に調節されています。真核生物では、細胞周期に依存して濃度が増加しS期の始めに最大濃度となり、細菌などでは対数増殖期に多く存在します。ポリアミン濃度を人為的に変化させると、少ないと成長阻害、多いとガン化、さらに多いとアポトーシスを誘起します。

細菌、カビ、イースト、高等動物などの細胞には、プトレシン、スペルミジン（プトレシンにアミノプロピル基が付加した化合物）、スペルミン（スペルミジンにさらにもう一つアミノプロピル基が付加）の3種類のポリアミンが存在します。高度好熱菌では、これらに加えもっと長い分子、カルドペンタミンなど、それに分岐したポリアミン、テトラキス（3-アミノプロピル）アンモニア（図2参照）などがポリアミンの主成分として加わります。

プトレシン putrescine                       $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$

スペルミジン spermidine       $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$

スペルミン spermine               $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$

図1 標準ポリアミンの名称と化学構造

これらの長鎖ポリアミン、分岐ポリアミンは最初、*T. thermophilus* で見出され、のちに他の好熱菌、超好熱性古細菌からも検出されました。*T. thermophilus* ではより高温時に増殖したとき、これらの特異ポリアミンがより多く存在するので、これらは耐熱性に関係していると推定できます。物理化学的な研究から、長鎖ポリアミンはDNAやRNAのステムなど二重鎖の構造、分岐ポリアミンはループ構造を安定すると示唆されています [1]。

*T. thermophilus* のゲノムが決まったおかげで、ポリアミンの合成系の研究ができるようになりました。標準ポリアミンは図3に示すように、アミノ酸アルギニンかオルニチン（アルギニンからアルギナーゼの働きで作られるので、結局はすべてアルギニン）からプトレシンが作られ、そこへアミノプロピル基（これもアミノ酸メチオニンが原料）が付加されスペルミジン、スペルミンが合成されます。特異ポリアミンは、その構造から標準ポリアミンを材料として合成されると推定されてきましたし、今もそう考えています。

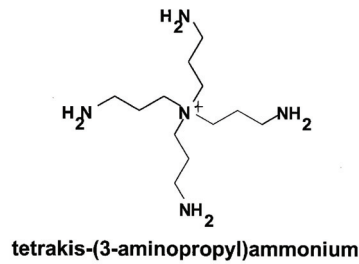
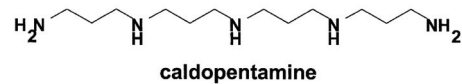


図2 特異ポリアミンの構造



*T. thermophilus* のゲノム中にオルニチンデカルボキシラーゼに相同な遺伝子はありませんでした。アルギニンデカルボキシラーゼと思われる遺伝子があるので、図3 Aの左上の回路はなく、右上の回路からプトレシンが作られると推定しましたが、この回路の2番目の酵素アグマチン・ウレオヒドロラーゼのノックアウト株を作ると、予期に反してアグマチンは蓄積せず、代わってそれまで *T. thermophilus* には見つかっていなかった未知のポリアミンが蓄積してきました。この未知のポリアミンはアミノプロピルアグマチン (図3のX) であると分かり、これがきっかけで *T. thermophilus* は図3 Bに示す全く新規な経路でポリアミンを合成していると分かりました [2]。アルギニンを出発物質とするこのポリアミン合成系の特徴は、スペルミジンがプトレシンを経由せずアグマチンから作られていることです。この経路は *T. thermophilus* に限らないはずで、超好熱古細菌 *Pyrococcus* のポリアミンが同じ回路と推定しています。

回路の証明に、Bに示す回路の上から2番目の酵素を精製し、解析しました。コードしている遺伝子は、大腸菌の *speE* 遺伝子 (スペルミジン合成酵素=プトレシン・アミノプロピル転移酵素) と相同で、*T. thermophilus* のゲノムでは「プトレシン合成酵素」と帰属されています。もし、図3 Bの経路が正しければ、プトレシンは基質とせずアグマチンを基質にするはずで、酵素名もそれにしたがって代える必要があります。

大腸菌内で発現した酵素を精製して基質特異性を調べると、アグマチンの他にスペルミジンや nor-スペルミジンを基質とすることが分かりました (nor-スペルミジンの構造は  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ )。プトレシンは全く基質とはなりません。したがって酵素名はアグマチン/トリアミン・アミノプロピル転移酵素となります。酵素反応の生産物は、それぞれアミノプロピルアグマチン、スペルミン、テルミン (スペルミンのアナログで、*T. thermophilus* の主たるポリアミンの一つ、 $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ ) となります。

この酵素の立体構造は理研・Spring8 の熊坂崇先生らによって解かれ、活性中心付近の構造からなぜプトレシンが基質にならずアグマチンなど一回り大きい分子、しかもその中にプトレシンを含んでいる分子を基質にするかが推理されています。

さて、肝心の特異ポリアミンの合成経路は全く分かっていません。*speE* に相同な遺伝子を破壊したノックアウト株は、かなり貧弱ですが 70°Cまでは生育可能です。特異ポリアミンは生産され

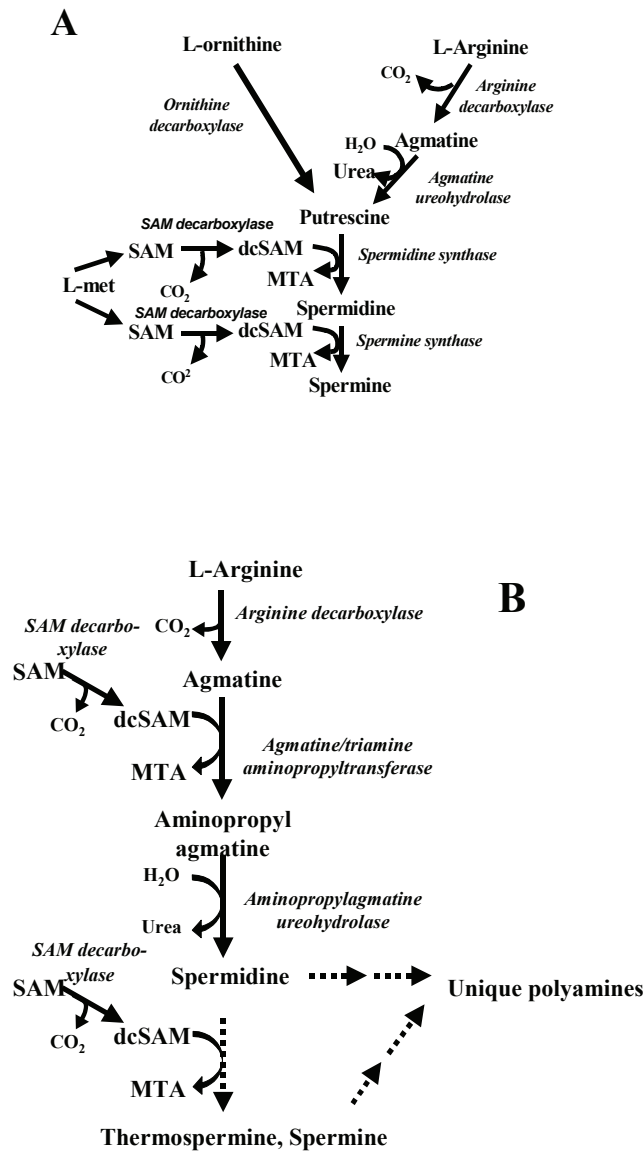


図3 ポリアミン代謝系の比較。 A 多くの生物で見られる合成系：アルギニンまたはオルニチンからプトレシンが作られ、ついでスペルミジン、スペルミンが作られる。 B *T. thermophilus* の合成系：アルギニンからアグマチンを経て一気にスペルミジンが作られる。

ず、70℃以上の高温下には生育しません。ところが、特異ポリアミンの一つ、テトラキス（3-アミノプロピル）アンモニアを与えると、78℃でも増殖可能となりますので、以前からの「特異ポリアミンは高温生育限界付近の高い温度の時に必要」という仮説に一致し多結果が得られています。

さらに別の謎も出てきました。speE ノックアウト株は何とか 70℃で生育可能なのは、それまで細胞の中にほとんど検出できない程度しか存在していなかったプトレシンが作られてくるからです。さらに不思議なことに、かなり大量の sym-ホモスペルミジン (NH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> NH (C

H<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>) も合成されています。プトレシン合成酵素群は普段は抑制され発現していないと思われる。現在のところ、どの遺伝子産物が働いているか見当もつきませんが、特異ポリアミンの合成に関わる酵素と共に *T. thermophilus* の「機能未知」遺伝子群の中に手がかりがあるはずです。

さらにポリアミンは細胞外からの取り込み系、余ったときの排出系があることが大腸菌、酵母、高等動物細胞で分かっています。おそらく、*T. thermophilus* のゲノム中にも多くの取り込みや排出のための遺伝子が存在するはずですが、これまでのところ手が回りかねています。

#### Reference

- [1] Terui, Y., Ohnuma, M., Hiraga, K., Kawashima, K., and Oshima, T. (2005) Stabilization of nucleic acids by unusual polyamines produced by an extreme thermophile, *Thermus thermophilus* *Biochem J.* **388**, 427-433
- [2] Ohnuma, M., Terui, Y., Tamakoshi, M., Mitome, H., Niitsu, M., Samejima, K., Kawashima, E., and Oshima, T. (2005) N<sup>1</sup>-aminopropylagmatine: A new polyamine produced as a key intermediate in polyamine biosynthesis of an extreme thermophile, *Thermus thermophilus* *J. Biol. Chem.* **280**, 30073-30082