

2021年9月30日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学
大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構

極めて安定な天然赤色色素を分解できるバクテリアを発見 ～新たな糖代謝酵素の同定～

カルミン酸は、コチニールカイガラムシという甲虫の一種が作る天然の赤色色素で、食品や化粧品、医薬品の着色に広く利用されています。この色素は、糖が炭素-炭素（C-C）結合した化合物群 C-配糖体の一つで、その C-C 結合は極めて安定なため、自然環境中でどのように分解されているのかは不明でした。

本研究では、筑波大学周辺の土壌から、カルミン酸を分解するバクテリアを発見しました。このバクテリアは、まずカルミン酸の糖を酸化し、その後、C-C 結合を分解します。その際の酸化反応を触媒する酵素を同定し、CarA と名付け機能解析を行いました。

CarA は、糖を酸化する酵素のグループに属し、C-配糖体を基質とする新規な酵素でした。また、CarA 以外に、別のバクテリアから遺伝子クローニングした2種類ホモログ（複数の生物種で類似する）酵素についても、同様の働きが見られることを明らかにしました。データベース検索により、さまざまな微生物が CarA ホモログを有することが判明し、C-配糖体代謝において、C-配糖体 3'-オキシダーゼ (CarA ホモログ) による糖の酸化が、初発反応として広く一般的に見られることが示唆されました。

さらに、これらのホモログ酵素の一つについての X 線結晶構造解析により、この C-配糖体 3'-オキシダーゼの反応機構が立体構造に基づいて提唱されました。

今後、他の代謝酵素も同定することにより、C-配糖体代謝の全容を解明していく予定です。

研究代表者

筑波大学生命環境系

小林 達彦 教授

高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所

千田 美紀 特任助教



研究の背景

カルミン酸は、コチニールカイガラムシという甲虫の一種が作る天然の赤色色素で、食品や化粧品、医薬品の着色に広く利用されており、その使用料は年間 200 トンに達します。カルミン酸はケルメス酸という化合物に糖が付加した化合物で、ケルメス酸の炭素 (C) と糖が直接 C-C 結合する特徴的な構造をもち、C-配糖体^{注1)}と呼ばれます。一方、天然に多く存在しているのは、糖が酸素原子 (O) を介して付加する化合物 (O-配糖体) です。O-配糖体に関しては、酸や熱もしくは加水分解酵素で比較的容易に糖部分が基質本体から切断されるのに対し、C-C 結合はとても安定なため、化学的にはもちろん、酵素を用いて分解することも困難で、これまで、土壌微生物から C-配糖体を分解する酵素は見つかっていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、カルミン酸を栄養 (単一の炭素源) として生育可能なバクテリア (図 1) を、筑波大学周辺の土壌中より発見するとともに、このバクテリアの細胞内でカルミン酸を分解する新規酵素を見いだしました。この酵素は、フラビンアデニンジヌクレオチドを補酵素として用い、糖を酸化する反応を触媒するフラビン酵素のグループ (ピラノースオキシダーゼファミリー) に属し、カルミン酸の 3' の位置を酸化したことから、C-配糖体 3'-オキシダーゼ (CarA) と命名しました。また、C-配糖体の C-C 結合を切断する最初の反応として、CarA によって糖の 3 位 (=カルミン酸の 3'位) の水酸基が酸化されることが分かりました (図 2)。

また、CarA のホモログ酵素^{注2)} の遺伝子を遺伝子配列のデータベースで検索したところ、他のバクテリアにも広く存在することが分かりました。そこで、他の 2 種のバクテリアからホモログ酵素を遺伝子クローニングし、CarA と同様の機能を有することを明らかにしました。データベースには、存在は確認されているものの、その機能が分かっていない遺伝子が数多くあり、その一部の機能が解明されました。この結果から、C-配糖体を代謝するバクテリアが広く自然界に存在していることが示唆されました。

さらに、結晶化に成功した CarA ホモログ酵素の一つについて X 線結晶構造解析を行い、結晶構造 (三次元構造) を明らかにしました (図 3)。これにより、活性部位のアミノ酸や補酵素の位置が詳細に明らかになり、CarA の反応機構が解明されました。なお、結晶構造解析のための X 線回折像は、高エネルギー加速器研究機構の放射光実験施設 (フォトンファクトリー ビームライン BL-17A) を利用して取得しました。

本研究により、土壌などの自然環境下における C-配糖体代謝が、バクテリアによって行われること、その最初の反応が、糖を酸化する新規酵素 CarA によって触媒されることを明らかにしました。

今後の展開

C-配糖体分解の 2 つ目のステップの C-C 結合切断反応については、ごく最近、腸内細菌由来の酵素が報告されたものの、詳細な機能解析は行われていません。今後は、今回同定した酵素に続いて、C-C 結合切断反応全体についても解析を進め、自然界における C-配糖体代謝のメカニズムを、酵素レベルで詳細に明らかにする予定です。

参考図



図1 カルミン酸を含む寒天培地（赤色）にカルミン酸分解バクテリアを生育させた様子。コロニー周辺（淡茶色）ではカルミン酸が分解されて赤色が消失している（培地の赤色に対し、コロニー周辺は淡ピンク色）。

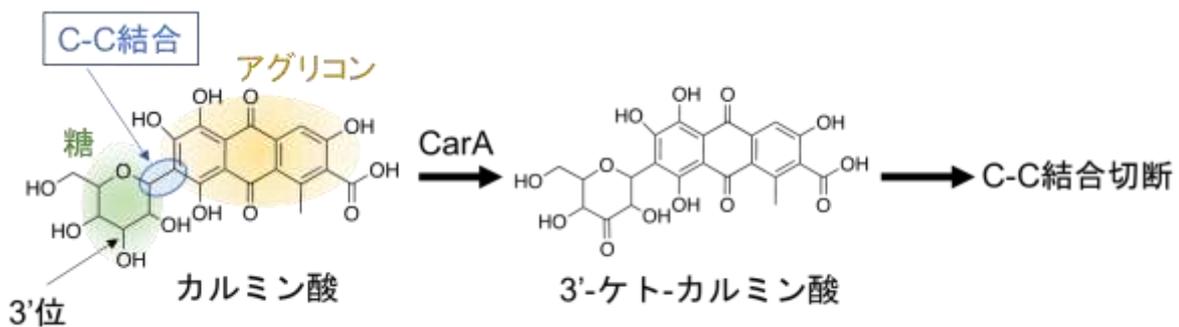


図2 CarA によるカルミン酸分解経路。CarA は最初の反応である糖の 3'位の酸化を触媒する。

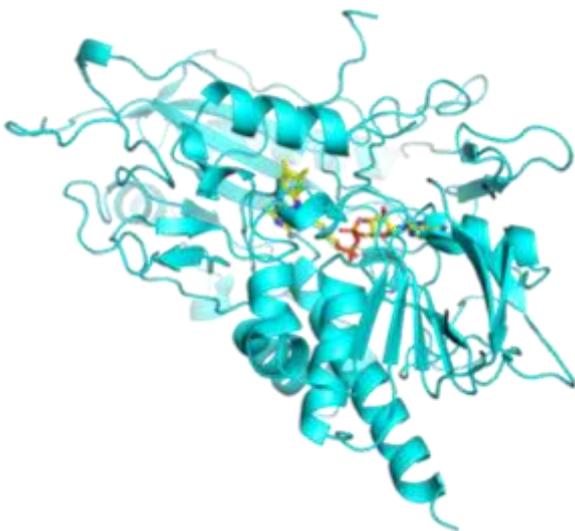


図3 X線結晶構造解析により明らかになった CarA ホモログ酵素の三次元構造。中央に補酵素 FAD（黄色とオレンジの構造）が結合している。

用語解説

注1) 配糖体

アグリコン（非糖部分）に糖が結合した化合物。一般的なのは酸素原子を介して結合した O-配糖体。カルミン酸は図 a のようにアグリコンと糖の炭素原子同士が直接結合した C-配糖体。

注2) ホモログ酵素

アミノ酸配列が互いに似ていて、類似した機能をもつ酵素のことを言う。

研究資金

本研究は、科研費 (JP19K05784, JP19H05687)、および国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) の課題番号 JP20am0101071 のサポートを受けて実施されました。

掲載論文

- 【題名】 FAD-dependent *C*-glycoside-metabolizing enzymes in microorganisms: Screening, characterization and crystal structure analysis
(微生物における FAD 依存的 *C*-配糖体代謝酵素：スクリーニング、機能解析および結晶構造解析)
- 【著者名】 Takuto Kumano, Sanae Hori, Satomi Watanabe, Yuzu Terashita, Hong Yang Yu, Yoshiteru Hashimoto, Toshiya Senda, Miki Senda, Michihiko Kobayashi
- 【掲載誌】 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)
- 【掲載日】 2021 年 10 月 5 日
- 【DOI】 10.1073/pnas.2106580118