

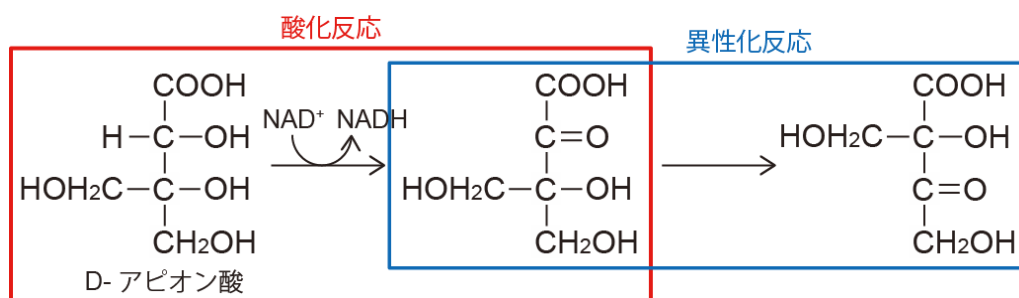
令和 8 年 10 月 15 日

愛 媛 大 学

単一の活性中心で異なる反応を連続的に行う酵素の構造基盤

愛媛大学大学院農学研究科（先端研究院沿岸環境科学研究センター教授 兼任）の渡辺 誠也教授、農学部 4 年生の青野 柚希さん、先端研究院プロテオサイエンスセンターの寺脇 慎一特定講師、大学院農学研究科 1 年生の里 陽美花さん、横井 大洋助教の研究グループは、単一の活性中心で酸化反応と共役した異性化反応を連続的に行う非常にめずらしい酵素である「D-アピオン酸オキシドイソメラーゼ（ApnO）」の立体構造を決定し、触媒メカニズムの解明に成功しました。

生命現象における化学反応を担う約 7,000 種類の酵素において、単一の活性中心で異なる化学反応を連続的に行うものはわずか 4 種類しか知られておらず、ApnO 以外の酵素は古くから研究が行われています。一方で、ApnO は基質である D-アピオン酸が入手困難なこともあり、2018 年に米国の研究グループによって反応そのものと酵素の正体が報告されて以降、詳細な解析が行われていませんでした。



研究グループではまず、ApnO が D-アピオン酸以外の入手しやすい化合物を基質にできることを見出し、これにより詳細な生化学的解析が可能となりました。次に、大型放射光施設 SPring-8 で収集した高分解能 X 線回折データをもとに全体構造を決定するとともに、2 個の金属イオンと阻害剤が結合した構造から触媒機構を推定しました。興味深いことに、こうした特徴は上記 4 種類の酵素の中の一つであるケトール酸レダクトイソメラーゼと類似していた一方で、ApnO には非常にめずらしい四面体配位をしたマンガンイオンが結合しており、その周囲の活性残基がまったく異なっていたことから、両者は独立にその反応機構を獲得したことが示唆されました。こうした知見は、「一つの酵素の反応は一つの反応様式に分類できる」という一般的な枠組みに当てはまらない稀有な酵素における分子進化の解明に貢献することが期待されます。

本研究成果は、2026 年 10 月 8 日に生化学分野の専門誌「*Journal of Biological Chemistry*」のオンライン版に先行掲載されました。

【本件に関する問い合わせ先】

愛媛大学大学院農学研究科
（先端研究院沿岸環境科学研究センター兼任）
教授 渡辺 誠也
電話：089-946-9848
E-mail：irab@agr.ehime-u.ac.jp



愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>

【研究の背景と経緯】

国際生化学連合（現在の国際生化学分子生物学連合）の酵素委員会が 1961 年に制定した EC 番号（酵素番号; Enzyme Commission numbers）は、7 つの反応に基づく酵素の分類法として広く用いられていますが、単一のクラスに明確に割り当てることができない酵素もごく少数存在しています。この中で、同一の活性部位内で異性化反応と EC クラス 1（酸化還元反応）の 2 つを連続的に触媒するのが、オーラチン C モノオキシゲナーゼ/イソメラーゼ、1-デオキシ-D-キシロース-5-リン酸レダクトイソメラーゼ、ケトール酸レダクトイソメラーゼ（KARI）、D-アピオン酸オキシドイソメラーゼ（ApnO）の 4 種類です。このうち ApnO は、2018 年に米国の研究グループによって植物細胞壁に含まれる単糖の一種 D-アピオースの細菌による資化経路の酵素の一つとして発見された最も新しいメンバーであり、唯一詳細な構造機能解析が行われていませんでした。この原因のひとつは、基質である D-アピオン酸が入手困難であることが挙げられます。

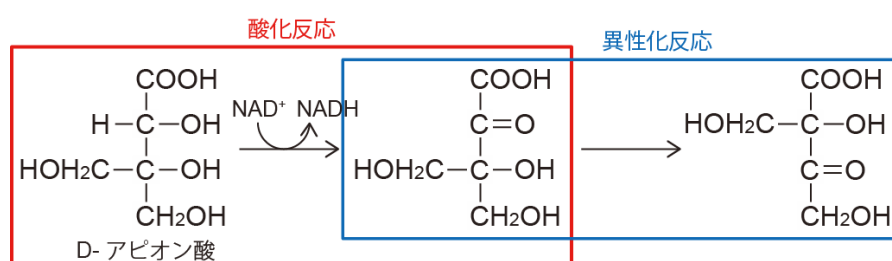


図 1. ApnO の触媒する反応

【研究の内容】

本研究グループでは、微生物のゲノム上の遺伝子の集まり（クラスター）から糖代謝に関連すると考えられるものを抽出し、そこから作られるタンパク質（酵素）の基質候補化合物ライブラリーからスクリーニングすることで多くの分解経路を発見しています。この手法と直近の研究成果（Watanabe *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2026, 302, 111280; [2026 年 2 月 27 日プレスリリース](#); [2026 年 2 月 27 日ストックサイト](#)）から、まず ApnO が D-エリトロン酸など入手が比較的容易な化合物も基質に利用できることを見出しました。これにより、D-アピオン酸を使わずとも詳しい生化学的解析が可能となりました。

ApnO は、機能既知の酵素とはアミノ酸配列の相同性を示しません。そこで、触媒メカニズム解明のために、X 線結晶回折法を用いて立体構造決定を行いました。大型放射光施設 SPring-8 のビームラインで高分解能データを収集し全体構造を決定したところ、意外なことに上記の KARI とよく似ていました。KARI の活性中心には 2 個の Mg^{2+} ($Mg(I)$ と $Mg(II)$) が、いずれも六面体配位で結合していることが知られていました。一方、ApnO では $Mg(II)$ に相当する位置に四面体配位の Zn^{2+} と Mn^{2+} ($Zn(II)/Mn(II)$) が、 $Mg(I)$ に相当する位置に六面体配位の Mn^{2+} ($Mn(I)$) がそれぞれ結合していました。金属イオンの同定のためには、それぞれの X 線の吸収端付近の波長で起きる異常分散効果を利用しました。この最も重要なデータ解析を行ったのが 4 年生の学生であることは、特筆に値します。タンパク質中で四面体配位をする Mn^{2+} が見つかったのは、これが二例目になります。

ApnO の活性は、KARI の反応の遷移状態構造を模倣した共通の化合物で顕著に阻害されました。そこで、この化合物との複合体構造をさらに決定し、基質結合部位と 2 個の金属イオンが関与する触媒メカニズムを明らか



にしました。ApnO の Zn(II)/Mn(II)と KARI の Mg(II)は、金属イオンの種類と配位様式が異なるだけでなくその周辺の活性残基に保存性が全くありません。これは、ApnO の Mn(I)と KARI の Mg(I)の結合部位の進化的起源が共通である一方で、もう一つの金属イオン結合部位は独立に獲得されたものであることを強く示唆します。

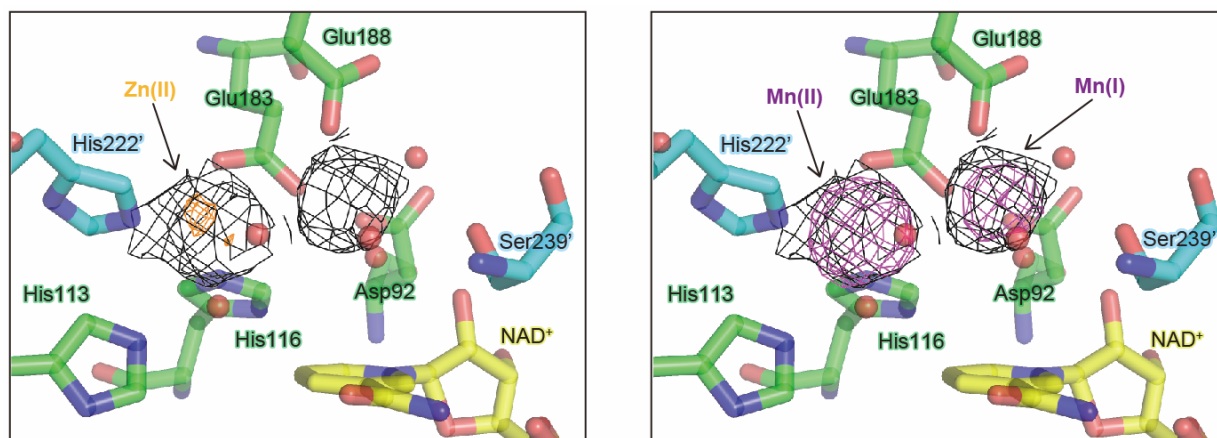


図 2. 1.28 Å (左)と 1.89 Å (右)の波長で測定した亜鉛(オレンジ)とマンガン(紫)の異常分散ピーク

【研究の意義】

タンパク質の正確な立体構造予測が出来るようになった現在、「なぜ直接構造を解く必要があるのか」を意識する重要性は逆に大きくなっています。本研究では、ApnO の反応自体の希少性もさることながら、活性中心に位置する金属イオンを X 線の異常分散効果を利用して直接同定し、新奇の結合様式を明らかにした点にこそ価値があり、これは構造モデルでは決して分からないものです。SPring-8 は、大規模な改修のため来年後半から長期の休止期間に入ることが決まっていますが、生まれ変わった放射光を再び利用して酵素に隠された面白さをさらに解き明かすことを楽しみに研究を進めています。

【論文情報】

掲載誌: *Journal of Biological Chemistry*

題名: Structural basis for oxidation-coupled isomerization by ApnO

(和訳) ApnO による酸化と共役した異性化反応の構造基盤

著者: Seiya Watanabe*#, Yuzuki Aono#, Shin-ichi Terawaki, Himika Sato, Taiyo Yokoi

doi: 10.1016/j.jbc.2026.113628

* 責任著者

共筆頭著者



愛媛大学の先端研究が世界をリードします！

<https://research.ehime-u.ac.jp/>