

総 説

再び微生物の Isoprenoid について

—Polyprenol とその役割—

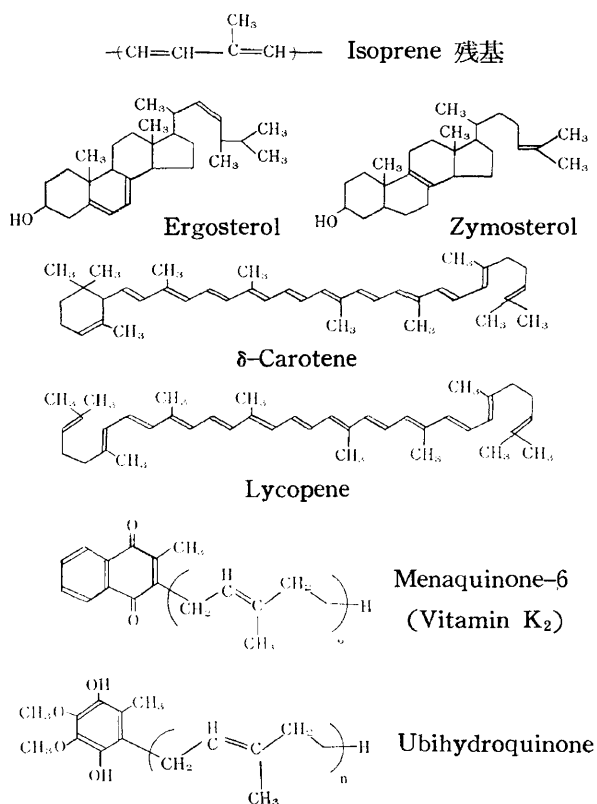
田 中 正 三*

Isoprenoids of the Microorganisms II Polyprenols and their biochemical roles

Shozo Tanaka

はじめに

1) 前報で述べたように、生物の脂質にはイソプレレン残

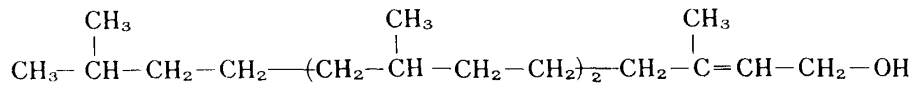
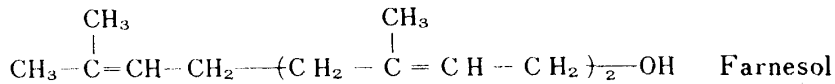
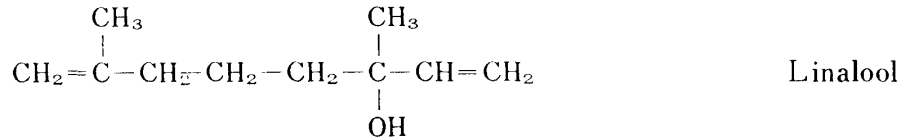
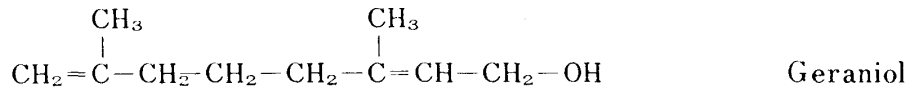


第1図 微生物にみられる主なIsoprenoid

基(第1図)の重合した形の炭素骨格をもつ化合物が多種類含まれており、その分布は広く高等動植物から細菌にまでおよんでいる。これらの中には Carotenoid, Sterol, Vitamin K, Vitamin E, Ubiquinone など生理的に重要なものが多く、これらは Isoprenoid の総称で呼ばれている。

酵母の *Sporobolomyces shibatanus* を培養して、その生育にともなう Isoprenoid の種類と含量の消長をしらべると、生育初期の菌体には比較的イソプレレン残基の重合度の低い Sterol などが多く含まれているが、次第に炭素数の多い Carotenoid や Ubiquinone の含量が大きくなる傾向が顕著に認められ、酵母の生理作用に Isoprenoid が密接な関係をもっていることがうかがえ、ことに生育初期につくられるものがどのようなものであるかという点に強い関心もたれる。かつて筆者らは大腸菌や *Corynebacterium sp.* の不ケン化物を研究している時に、³⁾ カラムクロマトや蒞層クロマトで n-ヘキサンのような非極性溶媒でよく溶出される物質をみつけたが、これらは既知の Isoprenoid の定性反応はみな陰性で、特別な紫外線吸収も示さないで、炭化水素か長鎖の脂肪族アルコールと推定しただけで詳細にしらべなかつた。これに該当するものとして、近年になって種々の植物の葉や哺乳動物の組織からポリイソプレレン骨格をもった長鎖のモノアルコールが続々発見されて、Polyprenol の総称で呼ばれるようになり、その生化学的役割もだんだん解明され

* 本学生物化学研究室



Phytol

てきたので、これらについて紹介することにする。

Polyprenol

厳密ないい方をすれば植物精油に含まれている Geraniol, Linalool, Farnesol などのアルコールや米糠や葉緑素にエステル形で存在している Phytol もみなポリイソプレン炭素骨格をもっているから、Polyprenol に属するアルコールといえよう。

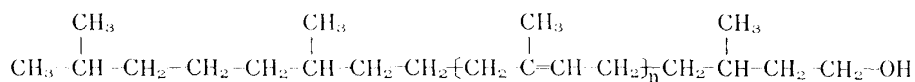
しかし、Hemming⁴⁾らによってマロニエの葉からとり出され Castaprenol と命名されたものはイソプレン残基が10~13個重縮合した長鎖のモノアルコールであり、ブタやネズミの肝から単離されて、ギリシャ語の Dolikhos (長い) にちなんで Dolichol⁵⁾ と名づけられたものはイソプレン残基の重合度が16~22という炭素数が100におよぶ大きい分子量をもったアルコールである。微生物の酵母⁶⁾、コウジカビ⁷⁾、乳酸菌⁸⁾などからも C₅₅~C₁₂₀のポリイソプレンアルコールがえられており、Polyprenol の名はこれらの長鎖のものに与えられたものである。いま、種々の Polyprenol の所在、イソプレン残基数、収量などをあげると(第1表)になる。これらの Polyprenol には、イソプレン残基のうちのいくつかは飽和されているもの、二重結合のところでの

第1表 種々の Polyprenol

名 称	所 在	イソプレン 残基重合度	新鮮材料 kg当収量
Castaprenol	マロニエ葉	10 ~ 13	100mg
Betulaprenol	カンバ葉	6 ~ 9	1500
Dolichol	ブタ肝	17 ~ 22	100
Dolichol	ネズミ肝	16 ~ 21	10
Dolichol	酵 母	14 ~ 18	5
—	Aspergillus fumigatus	8 ~ 24	
Bactoprenol	Lactobacillus casei	11	

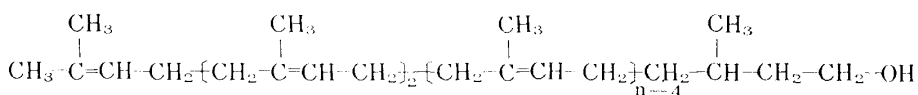
立体構造が cis-trans の異性体になっているものなど種々のものがあるが、代表としてコウジカビの Hexahydropolyprenol とネズミ肝の Dolichol の化学構造をあげておこう。

Polyprenol の生合成に関しては、放射性の Mevalonic acid のとり込み実験から、前報で示した他の Isoprenoid と同様の過程を経て行なわれることが証明された。Mevalonic acid は最初清酒の火落現象をおこす微生物の不可欠生長素として発見されたことは



n = 15~21

Hexahydropolyprenol (Asp. fumigatus)



trans

trans

cis

Dolichol (ネズミ肝)

よく知られているが、火落菌が乳酸菌に属する細菌であり、乳酸菌の Bactoprenol も Mevalonic acid からつくられることは、これらの細菌における Polyprenol の重要性を示唆するものとしてすこぶる興味がある。

細菌における Polyprenol の役割

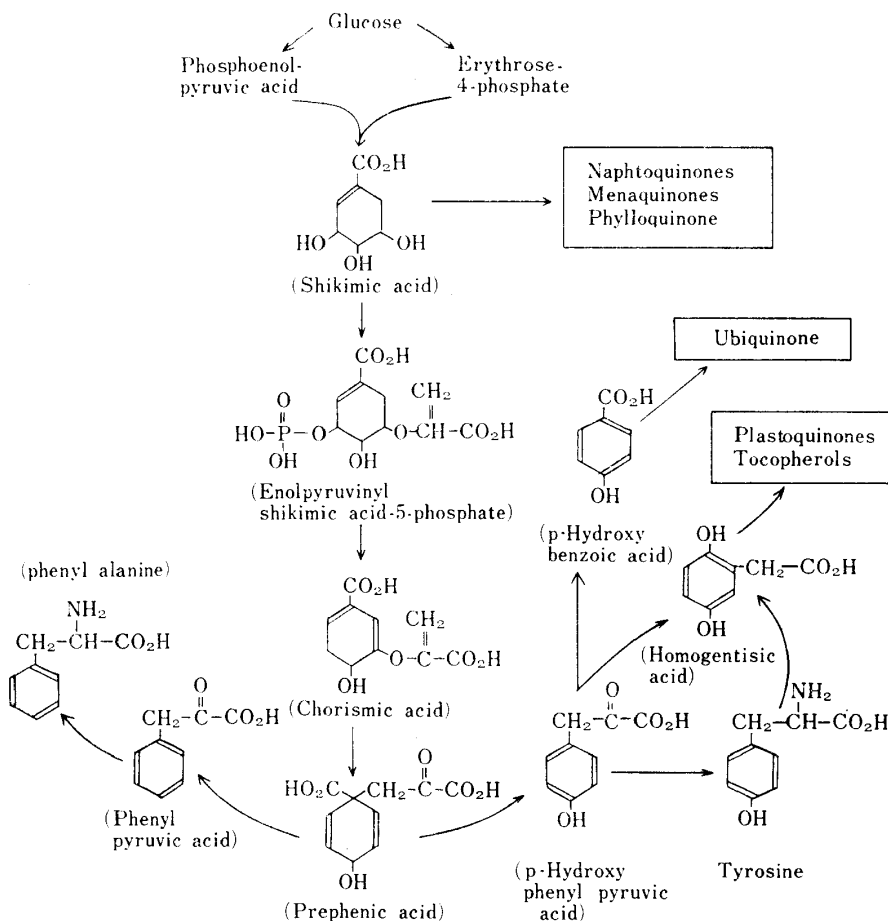
(1) 芳香族キノンの生合成と Polyprenol

現在までのところ細菌の生理作用と関連しての Polyprenol の役割には2つのことが明らかにされている。その(1)は Menaquinone-6(Vitamin K₂), Ubiquinone などの芳香族キノンの活性物質の生合成に関係するものであり、その(2)は細菌の細胞壁の構成成分であるムコペプチドの生合成に関する役割である。

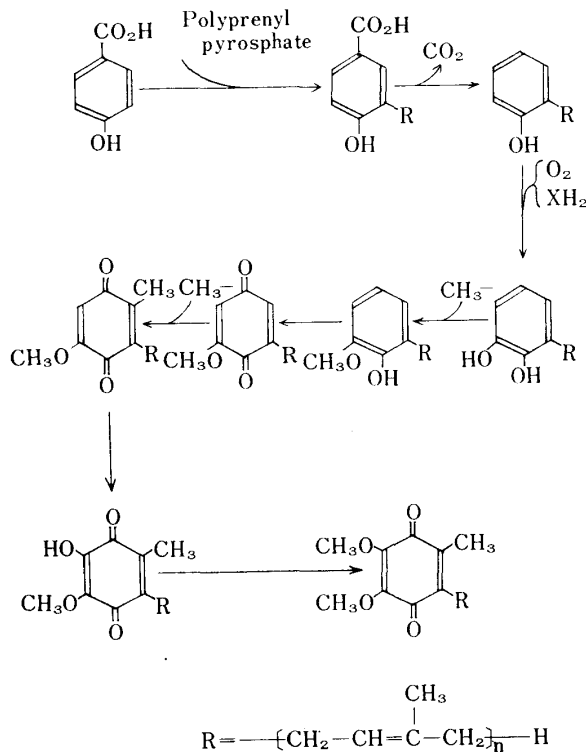
Phylloquinone (Vitamin K₁) や Menaquinone-6 のナフタレン環の生合成過程は今日まだ十分明らかにされていないが、Ubiquinone, Tocoferol(Vitamin E) などのベンゼン環はアミノ酸のチロシンやフェニルアラニンなどと同様にグルコースを出発物質とする Shikimic acid—Chorismic acid 経路でつくられる

ことが証明¹¹⁾されている。(第2図)。そして Chorismic acid や Prehenic acid から生成する p-Hydroxybenzoic acid が Ubiquinone の前駆物質であり、チロシンの代謝で生ずる Homogentisic acid が高等植物の葉緑体にある Plastoquinone と Tocopherol 生成の中間物質であることが判明して¹²⁾きた。そして、Menaquinone や Phthiocol のナフタレン環は Shikimic acid から導¹³⁾びかれるものと推測されている。

p-Hydroxybenzoic acid から Ubiquinone への過程は第3図¹⁴⁾に示すように、Polyprenol の活性型である Polyprenyl phosphate または Polyprenyl pyrophosphate から Polyprenyl 基が転移して 4-Hydroxy-3-polyprenyl benzoic acid ができ、これが脱炭酸されて 2-Polyprenyl phenol となり、以下水酸基の導入と S-Adenosyl methionine からのメチル基転移で最終的に Ubiquinone が生成することが、Rhodospirillum rubrum などの光合成細菌を用いてほぼ確実にされた。大腸菌その他のグラム陰性菌にも 2-Polyprenyl phenol や 6-Methoxy-2-polyprenyl phenol が含まれていることが証明¹⁵⁾されており、超音波破砕でえ



第2図 植物および微生物における芳香族キノンの生合成過程



第3図 p-Hydroxybenzoic acidからUbiquinoneの生成推定経路

られた大腸菌の無細胞液に *Micrococcus lysodeikticus* の抽出物と Isopentenyl pyrophosphate とを加えた反応系で Polyprenyl phenol が生成することなどから第3図の過程は多くの細菌によつて営まれる Ubiquinone 生合成の共通的な経路であると推測されている。

Menaquinone その他の生物活性をもつ芳香族キノン類の生合成に際しても Polyprenyl pyrophosphate から Polyprenyl 基がキノン環の α -位の炭素へ転移して長鎖のポリイソプレン側鎖を生ずるとの推定がなされている。

Polyprenol 自身は特別の生物活性をもっていないようであるが、Polyprenyl 側鎖をもつ芳香族キノン類の活性にはイソプレン残基の重合度や二重結合数が著しい影響を与える。第2表は¹⁷⁾ Vitamin K 群の血液凝固促進の活性と Polyprenyl 側鎖のイソプレン残基重合度との関係を示したものである。衆知のように Polyprenyl 側鎖をもたない合成 Vitamin K の Mena-dion も強い活性をもっているが、これには動物体内で Polyprenyl 基の導入が起こって Menaquinone になることが明らかになってきた。この変化が動物自身の酵素によるものか、腸内細菌などによるものかはわからないが、Polyprenol が芳香族キノン類の側鎖の供給源となって活性化に間接的な貢献をしていることは

第2表 種々のMenaquinoneとその相対的モル活性

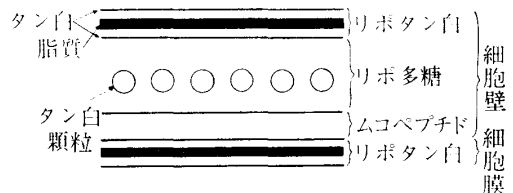
側鎖Rのイソプレン残基の重合度 (n)	ネズミ静脈注射によるモル活性
1	<1
2	<2
4	13
5	15
6 (VitaminK ₂)	170
7	1,700
9	2,500
10	1,700
* Phylloquinone (VitaminK ₁)	100

注 * n=4ノ phytyl 基が側鎖ニナツテイル

間違いなかるう。

(2) 細菌の細胞壁構成成分と Polyprenol

植物や細菌の細胞には細胞膜の外側に細胞壁と呼ばれる保護組織がある。細菌の細胞壁の構造はグラム陽性菌と陰性菌とでは著しく異っており、陰性菌のものは第4図の模型図¹⁹⁾で示したような4層の膜状構造からできている。すなわち、最外側には細胞膜などと同じようにタン白層、脂質層、タン白層からなる3層構造があり、この層と細胞膜との間にはリポ多糖、ムコペプチドからなる糖質を含んだ層がある。リポ多糖は糖脂質と異り、水に溶解脂肪溶媒には溶解しない物質で、²⁰⁾第3表に示すように細菌の種によりかなり異なった組成をもっている。



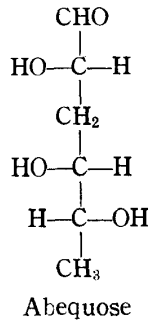
第4図 グラム陰性菌の細胞壁模型図

²¹⁾大腸菌や ²²⁾*Salmonella abortus equi* のリポ多糖については詳しい研究が行なわれており、これは温和な加水分解によってグルコース、ガラクトース、マンノース、ラムノース、アミノ糖のほか、アペクォース、チュベロースなどの特異の単糖からなるヘテロ多糖とアミノ糖、脂肪酸、リン酸を主成分としたリン脂質とも糖脂質とも考えられる Lipid A と呼ばれるものとに分解される。組成的にもつとも単純な大腸菌の Lipid A

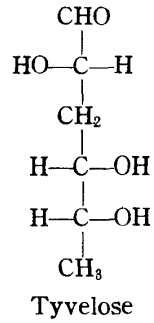
第3表 細菌のリポ多糖とLipid A

細菌種	リポ多糖			構成単糖 (%)								Lipid A				
	N%	P%	Hexosamine %	Galactose	Glucose	Mannose	Rhamnose	Xylose	Heptose	Abequose*	Tyvelose**	糖多スルニ対 %	MP	N%	P%	Hexosamine %
<i>Brucella melitensis</i>	5.4	0.5—0.6										20—26		4.4—4.6	1.4—1.6	
<i>Echelichia coli</i>	2.7	2.2	18	+	+							17—26	197°—200°	1.6	1.8	20.4
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3.3	3.8	13.8	+	+							28.4				
<i>Salmonella abortus equi</i>	1.3	2.8	8.7	15.2	8.3	8.7	10.8	-	+	~8		26	192°—196°	1.6	2.0	17.9
<i>Salmonella typhosa</i>			1.7	22.5	22.5	22.5	18	-	+	-	~9					
<i>Serratia marcescens</i>	2.2	1.1	+		+							16				
<i>Shigella sonnei</i>	2.8	3.9	8.3	9	9							29				

注 *

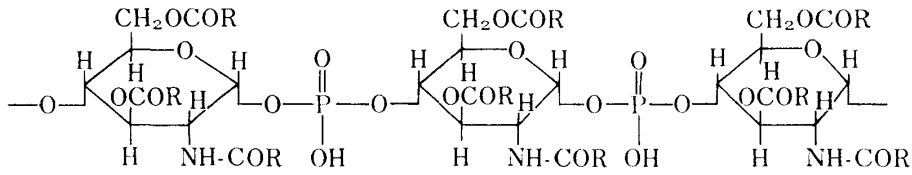


**



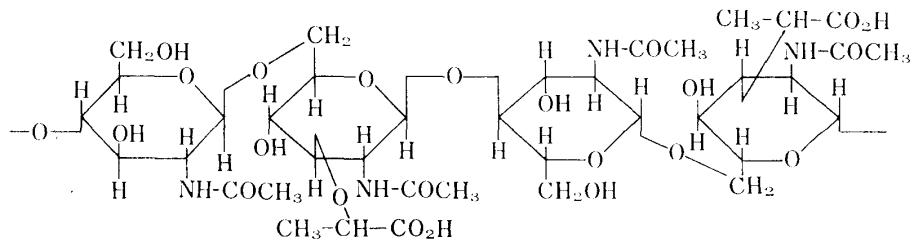
は第5図のような構造をもっており、細菌の種によってはこのような構造に、さらに、グルタミン酸、アス

パラギン酸、リジン、ジアミノピメリン酸などのアミノ酸が結合したのものもある。



RCO- = Fattyacyl 基

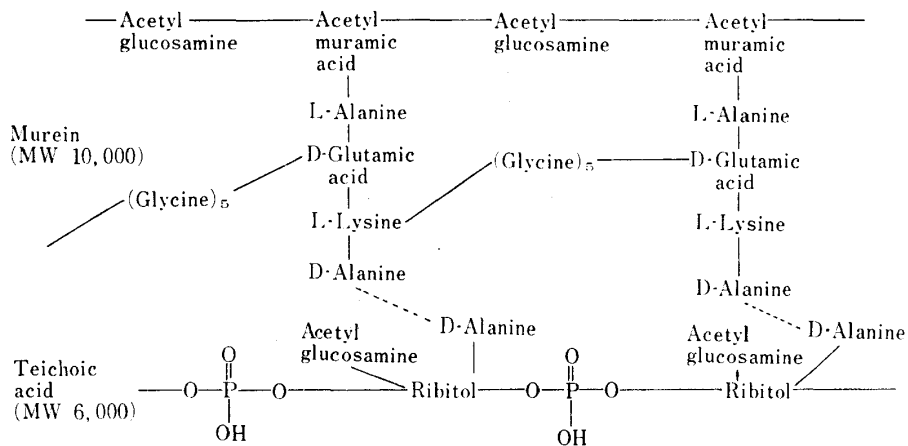
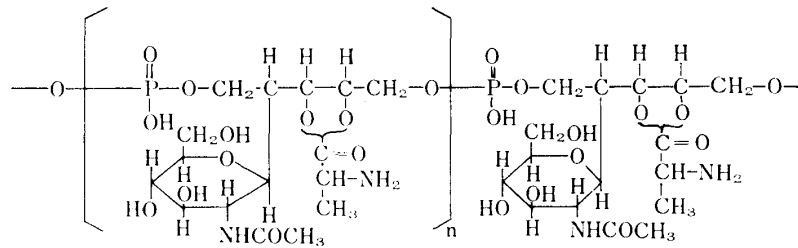
第5図 大腸菌のLipid A



Acetyl glucosamine Acetyl Muramic acid

Basal structure

第6図 M. lysodeikticus細胞壁のMurein



Murein と Teichoic acid との網目構造

第7図 Staphylococcus aureusのTeichoic acidおよびこれと Mureinとの網目構造

リポ多糖と共に細胞壁の主成分となっているムコペプチドは一般に Murein の名で呼ばれ、グラム陰性菌のものも陽性菌のものもよく似た化学組成をもっているが、細胞壁の Murein 含量は細菌によって著しく差²³⁾があり、例えば *Micrococcus lysodeikticus* のものでは90%を占めるが大腸菌では12%前後である。Mureinの主鎖はグルコサミンとアセチルムラミン酸とがグリコシド結合でつながった“Basal structure”と呼ばれる構造が単位となった重合体であり、ムラミン酸のカルボシキル基に数種のアミノ酸からなるオリゴペプチドが結合して網目構造ができ、細胞壁に機械的強度をもたせているとされている。グラム陽性菌の細胞壁にはさらに Teichoic acid と呼ばれる特有の酸性物質²⁴⁾が存在しており、これとムコペプチドとの結合で一層強固な組織がつくられている。第7図は *Staphylococcus aureus* の細胞壁にみられる Teichoic acid の構造²⁵⁾と Murein とのつながりを示したものである。

Teichoic acid には第7図のようなリビチルアルコールとリン酸とのエステル結合で長鎖ができたもののほかに、*Bacillus licheniformis* などのもののようにグリセロールとリン酸との架橋構造をもつもの²⁶⁾もあり、またグルコサミンの代りにグルコースを含むものやガラクトースの結合したものなど種々のものが発見されている²⁷⁾。

細菌の細胞壁をつくっているこれらの高分子化合物は細胞質でつくられて細胞外に送り出されるとは考え難い。そこで、これらの合成が細胞の外で行なわれるとすると、合成素材が如何にして細胞膜を通過して運び出されるか、また、これを利用してどのような機構で Murein などがつくられるかが問題になる。最近になってこれらの変化に Polyprenol が重要な役割を演じていることが次第に解明されてきた。

細胞質内でのオリゴ糖や多糖の生合成では素材の単

糖はまずリン酸エステルや UDP などのヌクレオチドと結合した高エネルギー化合物となってから特異のグリコシル基転移酵素の作用で受容体の糖質に結合する(第8図)。ところが、細胞壁のヘテロ多糖ができる場合には素材の糖は Polyprenol のリン酸エステルをキャリアーとして細胞膜の中を運ばれ、細胞壁でのヘテロ多糖合成におけるグリコシル基供与体となることが *Salmonella newingtonii* などについて明らかにされた²⁸⁾。

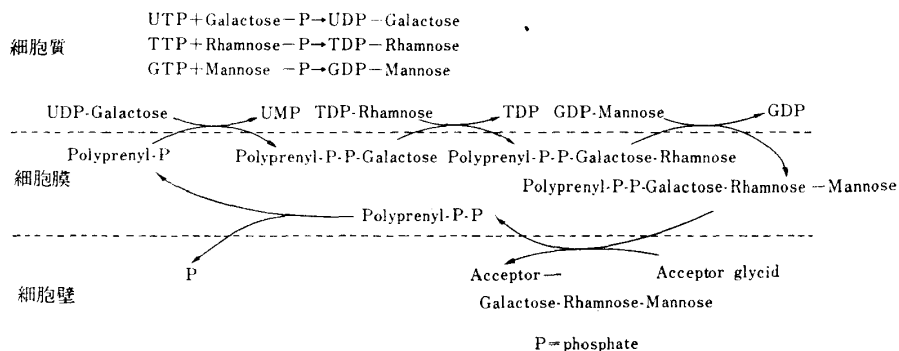
前述の *Micrococcus lysodeikticus* でもこれと同様の機構で Murein のムラミン酸とグルコサミンとの長鎖²⁹⁾がつくられることや、*Micrococcus lysodeikticus* の細胞壁に含まれているポリマンナン³⁰⁾の生合成にも Polyprenol がキャリアーをつとめていることが続々と判明してきた。

細菌の細胞壁の糖質は毒素や抗原としての活性をもつものが多く、微生物における Polyprenol の重要性は今後増々大きくなることが予測される。

高等動物における Polyprenol の役割については現在のところみるべき研究がないが、細菌の場合と同様に極性の大きい水溶性物質が生体膜を通過する場合の選択性や方向性をきめる能動輸送において、担体と推定されていたリン脂質や脂タン白の陰が弱くなってきている現在、これらに代るものとして Polyprenol のリン酸化合物が登場する可能性はないのであろうか。いずれにしても脂質の不ケン化合物の成分として生物界に広く分布しているながら見逃されてきていた Polyprenol の重要性を見直す必要があることを強調したい。

参 考 文 献

- 1) 田中正三, 京都女子大学食物学会誌, 23, 1(1969)
- 2) Kakutani, Y., J. Biochem 61, 193(1967), Kakutani, Y., Tanaka, S., unpublished.



第8図 *Salmonella newingtonii* におけるリポ多糖の生合成と Polyprenol の共働

- 3) 田中正三, 石原圭子, 田中政子, 大塚しづ子, 山田衣子, 未発表
- 4) Wellburn, A. R., Hemming, F. W., *Nature* **212**, 1364 (1966), Wellburn, A. R., Hemming, F. W., *Biochem. J.*, **104**, 173 (1967).
- 5) Dunphy, P. J., Kerr, J. D., Pennock, J. F., Whittle, K. J., Feeney, J., *B. B. A.*, **136**, 136 (1966).
- 6) Hemming, F. W., Morton, R. A., Pennock, J. F., *Proc. Roy. Soc. B.* **158**, 291 (1963), Wellburn, A. R., Hemming, F. W., *Phytochemistry* **5**, 969 (1966).
- 7) Stone, K. J., Hemming, F. W., *Biochem. J.* **104**, 43 (1967), *Ibid.*, **109**, 877 (1968).
- 8) Thorn, K. J. I., Kodicek, E., *Biochem. J.*, **99**, 123 (1966).
- 9) Tamura, G., *J. General Applied Microbiology*, **2**, 431 (1956).
- 10) Campbell, I. M., Cosica, C. J., Kelsey, M., Bentley, R., *B. B. R. C.*, **28**, 25 (1967).
- 11) Whistance, G. R., Threlfall, D. R., *Biochem. J.* **109**, 482, 577 (1968).
- 12) Rudney, H., Parson, W. W., *J. Biol. Chem.* **238**, 3137C (1963), Parson, W. W., Rudney, H., *Proc. natn. Acad. Sci.* **51**, 444 (1964).
- 13) Campbell, I. M., Cosica, C. J., Kelsey, M., Bentley, R., *B. B. R. C.* **28**, 25 (1967).
- 14) Daves, G. D. Jr., Friis, P., Olsen, R. K., Folkers, K., *Vitamins & Hormones* **24**, 427 (1966), Friis, P., Daves G. D. Jr., Folkers, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 4754 (1966).
- 15) Whistance, G. R., Dillons, J. F., Threlfall, D. R., *Biochem. J.* **111**, 467 (1969).
- 16) Raman, J. S., Rudney, H., Buzzelli, N. K., *A. B. B.*, **130**, 164 (1969).
- 17) Matschiner, J. T., Taggart, W. V., *J. Nutr.* **94**, 57 (1968).
- 18) Martius, C., Esser, H., *Bioch. Z.*, **331**, 1 (1968).
- 19) 小田琢三, 佐藤 了, 中尾 真 “生体膜の生化学” p. 314 (1969) 朝倉書店.
- 20) Asselineau, J., “The Bacterial Lipids” p. 194 (1966) Hermann Press, Paris.
- 21) Burton, A. J., Carter, H. E., *Biochemistry* **3**, 411 (1964).
- 22) Westphal, O., Lüderitz, O., *Angew. Chem.*, **66**, 407 (1954).
- 23) Work, E., *Nature* **179**, 338 (1957).
- 24) Baddiley, J., Davison, A. L., *J. General Microbiology* **24**, 295 (1961) *Ibid.*, **32**, 271 (1963). *Ibid.*, **34**, 333 (1964). Archibald, A. R., Baddiley, J., “Advances in Carbohydrate Chemistry” Vol. **21**, 323 (1966). Baddiley, J., Mathias, A. P., *J. C. S.*, 2723 (1954), *Ibid.*, 4186 (1950), *Ibid.*, 1869 (1957) etc., Mandelstam, M. I., Strominger, J. L., *B. B. R. C.*, **5**, 466 (1963).
- 25) Baddiley, J., Buchanan, J. G., BajBhandary, U. L., Sanderson, A. R., *Biochem. J.* **82**, 438 (1962), Baddiley, J., Buchanan, J. G., Hary, F. E., Martin, R. O., BajBhandary, U. L., Sanderson, A. R., *B. B. A.*, **52**, 406 (1961), Baddiley, J., Buchanan, J. G., Martin, R. O., BajBhandary, U. L., *Biochem. J.* **85**, 49 (1962).
- 26) Burger, M., *B. B. A.*, **71**, 495 (1963), Elwood, D. C., Kelemen, M. W., Baddiley, J., *Biochem. J.* **86**, 213 (1963), Shaw, N., Baddiley, J., *Biochem. J.*, **93**, 317 (1964).
- 27) Armstrong, A. A., Baddiley, J., Buchanan, J. G., *Biochem. J.* **76**, 610 (1960), *Ibid.*, **80**, 254 (1961).
- 28) Wright, A., Dankert, M., Fennessey, P., Robbins, P. W., *Proc. natn. Acad. Sci.* **57**, 1798 (1967).
- 29) Higashi, Y., Strominger, J. L., Sweeley, C. C., *Proc. natn. Acad. Sci.* **57**, 1878 (1967).
- 30) Sher, M., Lennarz, W. J., Sweeley, C. C., *Proc. natn. Acad. Sci.* **59**, 1313 (1968).