

ポリケチド合成酵素ファミリーの包括的解析

Comprehensive analysis of polyketide synthase families

京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンター化学生命科学 清水 祐吾

背景と目的

ポリケチドはバクテリアや菌類、植物等によって産生される天然化合物(二次代謝物質)の 1 つであり、ポリフェノール、マクロライド、ポリエン、エンジン、ポリエーテルといった多様な化学構造を取り得ることや、自己防衛、情報伝達、毒性因子、色素などの様々な生物学的機能が知られている。また、エリスロマイシン、ラパマイシン、ロバスタチンなどの臨床的に重要な多くの薬品を含む抗生物質、抗癌剤、抗寄生虫剤、免疫抑制剤、コレステロール低下剤等の薬理活性を持つ多様な化合物が含まれていることが知られており新たな薬剤の探索候補として注目されているタンパク質ファミリーである。ポリケチドは生物内においてポリケチド合成酵素(PKS)によって触媒され合成されている。その過程は脂肪酸合成酵素(FAS)による脂肪酸合成経路と類似しており、アセチル CoA やマロニル CoA などの単純なスターター基質にマロニル CoA やその誘導体の伸長鎖基質を繰り返し縮合、修飾を行うというものである。縮合の回数、各伸長鎖における修飾の種類と有無、そして他の酵素による反応後修飾によってポリケチドの広範な多様性が生み出されている。

現在、ゲノム決定や配列解析によってポリケチドと推定されるタンパク質の遺伝子配列が大量に発見されているが、その機能は未知のものも多く、タンパク質の配列から計算機的に生成物ポリケチドの化学構造及びその性質を予測するという試みが行われている。PKS はその反応様式及び配列ドメイン構成によって大きく 3 種類に分類されているが、生成物予測にはまずタイプの決定が必要であり、また、従来の分類ではとらえられないような PKS も見つかった。これらのことから生成物予測に利用できるような包括的な分類体系を整えることを目的として解析を行った。

検討内容

KEGG GENES データベースに登録されているゲノムが解明された 2000 以上の生物種に対して既知の PKS である pikAIII(タイプ I)、actI/ORF1,2,3(タイプ II)、CHS1(タイプ III)のそれぞれをシードとし配列類似度検索法である PSI-BLAST を用いて PKS、PKS 類似タンパクの遺伝子の抽出を行った。PSI-BLAST の繰り返し回数は 10 回まで行い、繰り返し毎に $e\text{-value}10^{-3}$ の閾値にて配列を取得した。これらの遺伝子のタンパク質配列のドメイン情報をタンパク質のドメインデータベースである PFAM と隠れマルコフモデルを用いたドメイン検索ソフトウェアである HMMER を用いて抽出し、得られたデータを必須ドメイン(KS、ACP、AT)の組み合わせによって網羅的に分類をすることでその特徴付けを行った。また、タイプ I のものには必須ドメイン以外の選択的ドメインが存在することからその影響を考慮するために pikAIII 以外のドメイン構成の異なる既知のタイプ I PKS を KEGG BRITe の階層分類より取得し同様の解析を行った。

結果と考察

それぞれのシードから PSI-BLAST によって得られた配列の数を表 1 に示した。pikAIII をシードに用いた場合の結果が振動しているが、この傾向は他の既知タイプ I シードを用いて検索を行った結果においても同様と

なった。これに対し、PKS に必須であるドメインを持たないノイズとなっていると考えられる配列を覗いた結果、多少の振動は見られるものの比較的安定していることがわかった(図 1)。さらに、各ドメイン構成別に配列数をカウントした結果、ACP ドメインだけを持つものを除くとどのタイプ I シードを使ってもほぼ同数の結果となることがわかった。すべてのタイプのシードから得られた結果を比較した結果、タイプ I とタイプ II のシードから得られた結果は一致性が高く、タイプ III シードから得られた結果とそれ以外のタイプのシードから得られた結果には繰り返し回数が 4 以下では重複がほとんど見られなかったが 5 回目以降では重複が見られた。また、これらの結果に加えて PFAM における KS ドメインの定義の違いを利用することでタイプ I~III を区別することが可能となった。

#Iteration	Seeds of PSI-BLAST				
	pikAIII (Type I)	actIORF1 (Type II KS- α)	actIORF2 (Type II KS- β)	actIORF3 (Type II ACP)	CHS1 (Type III)
1	9,577	7,437	6,096	91	725
2	47,602	7,967	7,802	2,234	4,290
3	25,676	7,860	7,721	6,027	4,858
4	64,478	9,781	7,805	10,672	5,702
5	13,005	13,468	7,882	11,618	12,341
6	15,493	14,038	8,147	11,422	18,320
7	18,304	14,230	10,750	11,285	17,666
8	28,639	14,587	15,222	11,283	17,232
9	56,417	14,652	15,820	11,175	17,210
10	21,675	14,770	16,147	11,242	17,293

表 1. PSI-BLAST による各シード別の配列取得結果

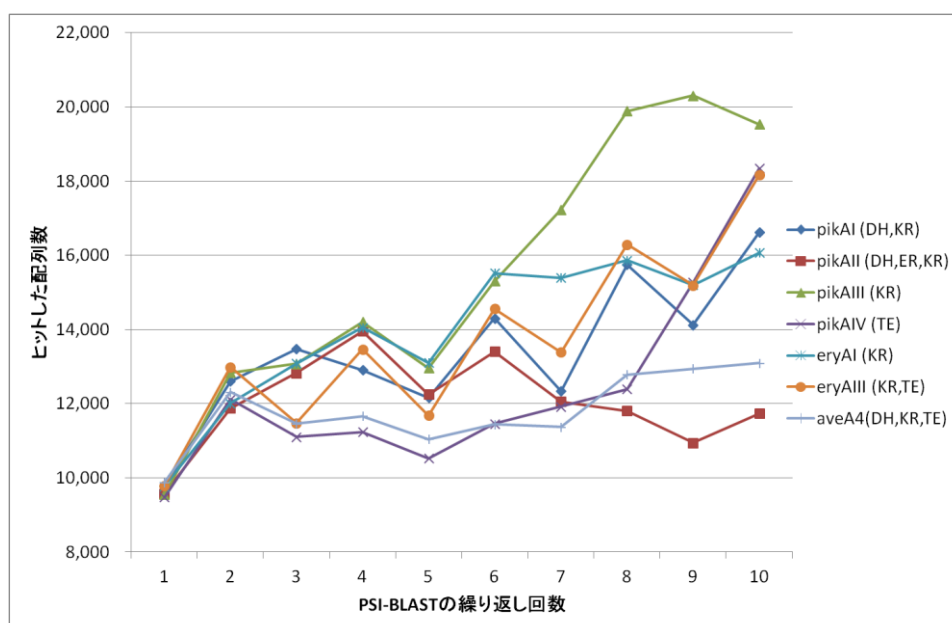


図 1. 様々なタイプ I シードから得られた PSI-BLAST による配列取得結果において少なくとも 1 つの PKS 必須ドメインを持つ配列数。括弧内はシードの持つ選択的ドメイン。