

トピックス

進化の過程でピリドキサルリン酸はチアミンニリン酸を代替したか Pyridoxal phosphate as a possible substitute for thiamine diphosphate

チアミンニリン酸 (TDP) の代謝における役割は、カルボニル基 $C=O$ の炭素をカルボアニオンにして、もともと求電子的な C を求核的にすることである。これが可能になるのは、図 1 (a) のように形成された求核付加体 (2) で二重結合の位置が元の化合物 (1) の $C=O$ から 1 つ隣に移動しているからである。このような機

構の反応は acyl anion chemistry と呼ばれる。この反応の類型は HCN の触媒によるベンゾイン縮合 (図 1 (b)) にみられるが、生命においては HCN のままでは毒性があるので、触媒としての本質的な部分を温存しつつ無毒で扱いやすい形に変えたのが TDP であると考えることができ、進化の妙を感じる。

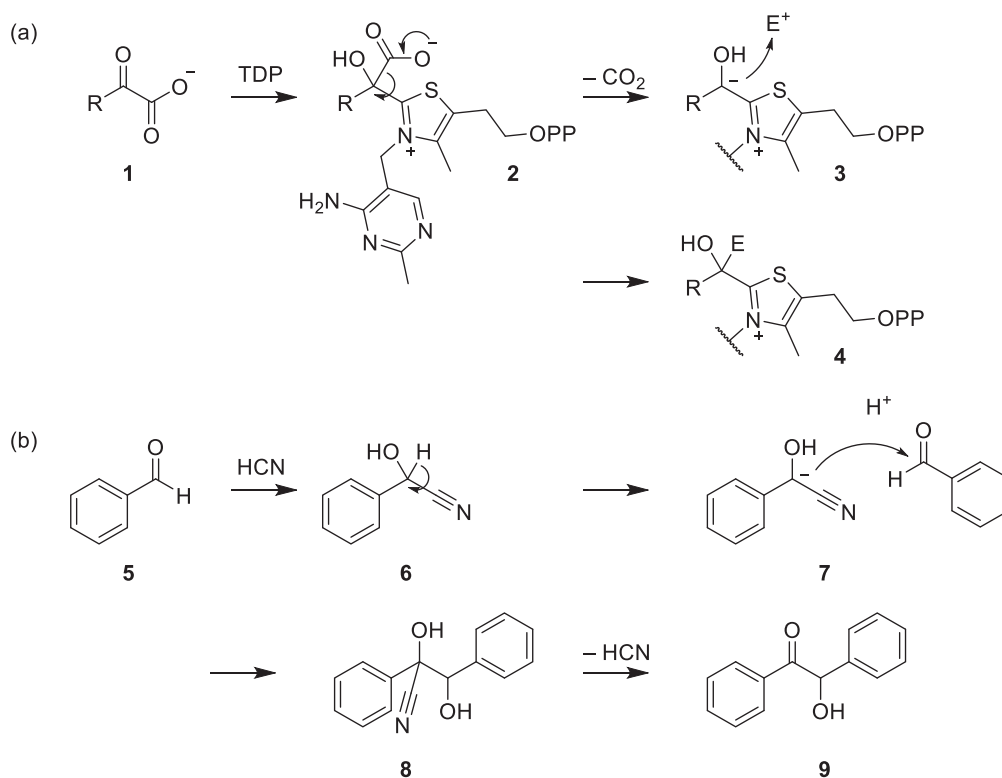


図 1 “Acyl anion chemistry”

(a) TDP による α -ケト酸の脱炭酸依存性の求核反応。脱炭酸により α -炭素に生成したカルボアニオン (3) が求電子剤 (E^+) を攻撃する。OPP はニリン酸エステルを示す。なお、脱炭酸ではなく脱プロトン化によっても同様に α -炭素をカルボアニオンとすることもできる (トランスケターゼなど)。(b) HCN の触媒によるベンゾイン縮合。脱プロトン化により α -炭素に生成したカルボアニオン (7) がもう一つのベンズアルデヒドのカルボニル炭素を攻撃する。TDP のチアゾール環の $C=N^+$ の部分はシアン化物イオン $C\equiv N^-$ と等価の役割を果たす。いずれも付加体の形成により、二重結合がもとのカルボニル基 $C=O$ から 1 つ移動し、これが α -炭素に生成したカルボアニオンを安定化する。

このような二重結合の移動はチアミン二リン酸のような構造を持たなければ不可能のように思われてきたが、よく考えると、ピリドキサール 5'-リン酸 (PLP) およびピリドキサミン 5'-リン酸 (PMP) の触媒反応において、アルドイミン中間体とケトイミン中間体の相互転換の際に二重結合の移動が起こっている。加えて、PLP/PMP の反応機構では α -アミノ酸・ α -ケト酸の α 炭素においてカルボアニオンが生成している。そうすると、PLP/PMP が TDP の触媒機能を代替することは可能ではないか、ということに気づく。

このことについて精緻な考察を行った総説が最近 Leibniz University Hanover の Kirschning によって発表された¹⁾。以下にそのあらましを紹介する。

1. PLP/PMP は TDP の触媒機能を代替することが反応機構上可能である

α -ケト酸 (10) と PMP からケトイミン (11) が生成し、これが 1,3-プロトトロピックシフトによってアルドイミン (12) になる。こうなると α -炭素が活性化されて脱炭酸が起こり、 α -位にカルボアニオン (13) が生じる。このカルボアニオンに求電子性の化合物が結合する (14)。TDP の場合は α -ケト酸と結合してすぐに α -炭素が活性化される構造 (2) になるのに対して、PLP の場合は 1,3-プロトトロピックシフトの段階 (11 \rightarrow 12) が余分に必要となるが、それを別にすれば、PLP で TDP の触媒反応を代替することが原理的に可能という

ことになる。

Kirschning の総説¹⁾では実際に一般に TDP を要求する生合成反応である分枝アミノ酸・芳香族アミノ酸の生合成、およびペントースリン酸経路において PLP/PMP を TDP の代わりに用いた反応機構が可能であることを図示しているが、この反応機構は簡単に描くことができるのでここでは触れないことにする。

2. PLP/PMP が TDP の代替となりうることの進化的意義

生命がどのように出来上がってきたかということを論じるうえで往々にして問題になるのが、「ニワトリと卵」で表現されるパラドックスである。たとえばタンパク質が作られるためには DNA・RNA とタンパク質自身が必要である一方で、DNA が作られるためにタンパク質が必要である、といったものである。これについては、White²⁾、Hopfield ら³⁾の仮説によって見通しが良くなってきた。それは自己触媒的に増殖する RNA が RNA の断片にアミノ酸を結合したものと、原始的補酵素を結合したものを有することで触媒機能が多様化して代謝が進化し、やがて前者の RNA 断片が tRNA に、後者の RNA 断片が補酵素になったというものである。

しかしながら、生体物質が触媒機能を持ち、それが自分自身の生合成を触媒している場合、この経路がどのように進化したのかという問題がある。TDP がまさ

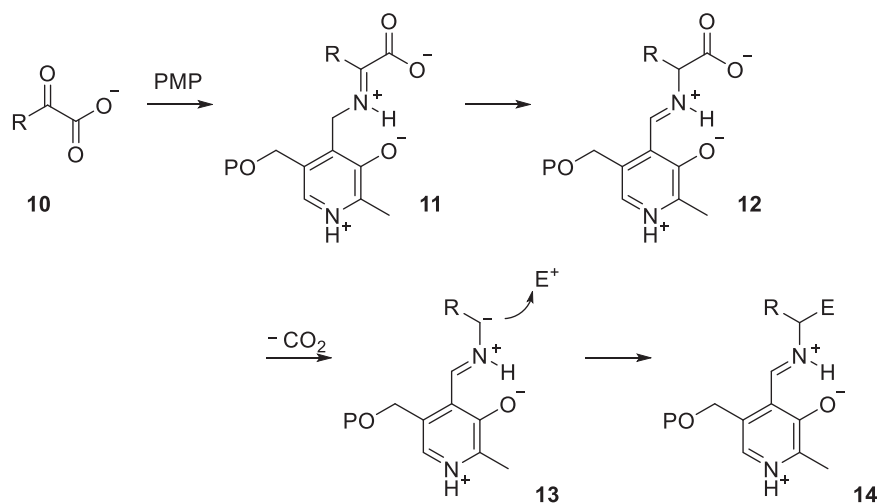


図2 PLP/PMP による“acyl anion chemistry”

α -ケト酸と PMP からケトイミンが生成し、これがアルドイミンとなって脱炭酸が起こり、 α -炭素がカルボアニオンとなる。これが求電子剤と反応する。この反応機構は TDP の機能を PLP/PMP が代替しうることを示している。OP はリン酸エステルを示す。

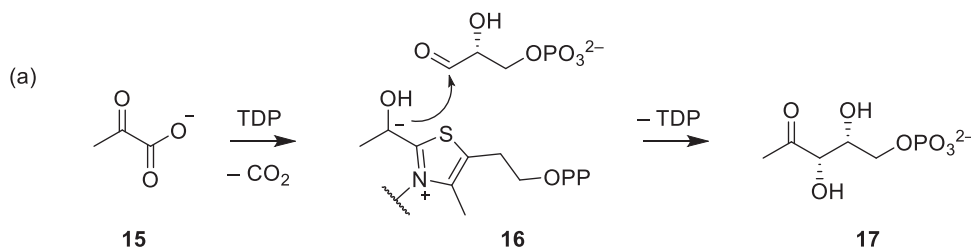


図3 TDP 生合成の原料 1-deoxy-D-xylulose phosphate (17) の合成
 ピルビン酸と D-グルセルアルデヒド 3-リン酸から TDP の関与で作られる。

にその例である。TDP の合成の 3 つの経路はいずれも 4-amino-5-hydroxymethyl-2-methylpyrimidine diphosphate と 5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazole phosphate (HET-P) の求核置換反応 (二リン酸が脱離する) によって作られるが、そのうちの 1 つの経路は HEP-P をグリセルアルデヒド 3-リン酸、システイン、ピルビン酸、グリシンから生合成する際に、TDP がピルビン酸 (15) を脱炭酸させて生じたカルボアニオン (16) がグルセルアルデヒド 3-リン酸のカルボニル炭素を求核的に攻撃して中間体 1-deoxy-D-xylulose phosphate (17) を作る段階がある⁴⁾⁵⁾。

ここで注目すべきことは、TDP の生合成機構は複雑であるが、PLP はグリセルアルデヒド 3-リン酸・リボース 5-リン酸・グルタミンから比較的容易に合成されるということである。したがって、TDP よりも PLP の方が進化的に先に作られたと考えることは妥当である。そうすると、TDP の生合成経路が確立するまで PLP/PMP が TDP の機能を代替し、経路が確立したのちに TDP が自己の生合成を触媒するようになったというシナリオが考えられる。このようにして少なくとも TDP の生合成については進化の「ニワトリと卵」の問題を解決することができる。

3. TDP なしの代謝では PLP/PMP の関与が必須か？

上記のように前生物的 (primordial) 環境において、PLP/PMP が TDP の役割を代替していたと考えると進化上の問題を解決することになる。すなわち十分条件を満たしていることになるが、逆にこれは必要条件、すなわち PLP/PMP が関与しなければならないということになるのだろうか。

当然ながら、acyl anion chemistry を実現できるものであれば、PLP/PMP 以外のものであっても良いことになり、現存しなくても進化の過程で PLP/PMP 以外のものがあつた可能性は十分にある。ところが、そもそ

も acyl anion chemistry なしに代謝を組み立てることができるとしたら、TDP も、その代替の PLP/PMP も必要がないことになる。

ペントースリン酸経路の非酸化的部分は、C₃ 単位の移動と C₂ 単位の移動を組み合わせることによって六炭糖リン酸と三炭糖リン酸から五炭糖リン酸 (ペントースリン酸) を可逆的に生成するしくみになっている (図 4)。

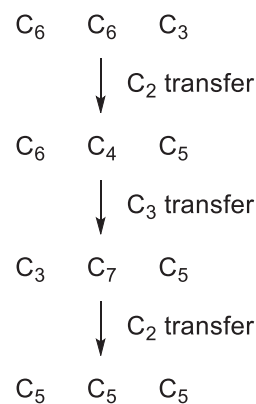


図4 ペントースリン酸経路の概念

トランスアルドラーゼによる C₃ 単位の移動とトランスケトラーゼによる C₂ 単位の移動を組み合わせることによって、六炭糖と三炭糖から五炭糖を生成している。

この中間体はすべて 2-位が C=O となったケトースリン酸 (2-ulose phosphate) であるため、アルドール縮合/解裂を触媒するトランスアルドラーゼによって C₃ 単位が移動する。C₃ 単位の移動だけでは六炭糖と三炭糖から五炭糖を作ることができないので、acyl anion chemistry を用いたトランスケトラーゼの触媒によって C₂ 単位の移動を起こしている。そのため現存のトランスケトラーゼは TDP を補酵素としているが、これが進化のある時期には PLP/PMP によって行われていた可能性がある。

ところが、いくつかのアーキアでは糖の3-位がC=Oになっている3-ヘキスロース6-リン酸のアルドール解裂によって五炭糖リン酸を作っている(図5)^{6,7)}。以前よりホルムアルデヒドの固定を行う経路として知られていたリブロース5-リン酸経路では、ペントースリン酸経路で作った五炭糖のD-リブロース5-リン酸(19)にアルドール縮合でホルムアルデヒドを固定してD-arabino-3-ヘキスロース6-リン酸(18)とし、異性化でD-フルクトース6-リン酸に変えたあと再びペントースリン酸経路に入れる、というサイクルが出来上がっている⁷⁾。しかしながら、*Thermococcus zilligii*を始めとするいくつかのアーキアではペントースリン酸経路が不完全であり、リブロース5-リン酸経路を逆に動かすことで五炭糖リン酸を確保し、同時に生成したホルムアルデヒドをC₁化合物として利用している。

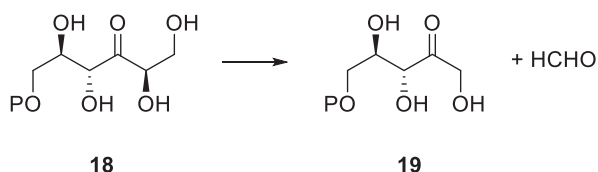


図5 D-arabino-3-ヘキスロース6-リン酸(18)のアルドール解裂によるD-リブロース5-リン酸(19)の生成。

また、アーキアの一つ *Methanococcus jannaschii* ではアルドール縮合/解裂を駆使することでシキミ酸を合成している⁸⁾。

さらにTDPのかかわる重要な反応としてピルビン酸からアセチルCoAの生成があるが、これも2分子のCO₂からアセチルCoAを生成するWood-Ljungdahl経路⁹⁾やピルビン酸とCoAからアセチルCoAとギ酸を作るギ酸C-アセチル転移酵素^{10,11)}が存在し、いずれもacyl anion chemistryではない反応のため、TDPを不要とする。なおWood-Ljungdahl経路は金属硫化物や遷移金属の豊富な熱水鉱床で進化した原始的な反応経路と考えられている¹²⁾。

以上のように見てくると、代謝経路の確立の初期においては、TDPの関与が必要でないばかりでなく、そもそもacyl anion chemistryも必要でない代謝が行われていた可能性が高い。その後、acyl anion chemistryを用いる代謝が登場したが、TDPがTDPの生合成を触媒する経路が存在していることに注意すると、いきなりTDPがacyl anion chemistryを担ったと考えるよりも、最初にPLP/PMPがそれを担い、後にTDPが使われる

ようになったとする方がうまく説明できる。

最初に述べたように、TDPはHCNを巧みに補酵素化したものと考えることができ、HCNで生成するニトリルと比べて副反応が抑えられ、反応特異性の高い洗練された触媒である¹³⁾。しかし、それだけに進化のかなり後のほうになって作られたものと考えられる。TDPのようなチアゾリウム化合物の前にイミダゾリウムがacyl anion chemistryの触媒となっていたことが考えられるため¹³⁾、これがPLP/PMPからTDPへの転換の橋渡しとなっていたのかもしれない。

Key words: pyridoxal 5'-phosphate, thiamine diphosphate, acyl anion chemistry, evolution, metabolism

Faculty of Nursing, Senri Kinran University

Hideyuki Hayashi

千里金蘭大学看護学部

林 秀行

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2024.6.3 受付)

文 献

- 1) Kirschning, A. (2024) Why pyridoxal phosphate could be a functional predecessor of thiamine pyrophosphate and speculations on a primordial metabolism. *RSC Chem Biol* 10.1039/D4CB00016A
- 2) White, H. B. (1976) Coenzymes as fossils of an earlier metabolic state. *J Mol Evol* 7, 101–104
- 3) Hopfield, J. J. (1978) Origin of the genetic code: a testable hypothesis based on tRNA structure, sequence, and kinetic proofreading. *Proc Natl Acad Sci* 75, 4334–4338
- 4) Kirschning, A. (2022) On the evolution of coenzyme biosynthesis. *Nat Prod Rep* 39, 2175–2199
- 5) Xiang, S., Usunow, G., Lange, G., Busch, M., and Tong, L. (2007) Crystal structure of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase, a crucial enzyme for isoprenoids biosynthesis. *J Biol Chem* 282, 2676–2682
- 6) Xavier, K. B., Da Costa, M. S., and Santos, H. (2000) Demonstration of a novel glycolytic pathway in the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus zilligii* by ¹³C-labeling experiments and nuclear magnetic resonance analysis. *J Bacteriol* 182, 4632–4636
- 7) Kato, N., Yurimoto, H., and Thauer, R. K. (2006) The Physiological Role of the Ribulose Monophosphate Pathway in Bacteria and

- Archaea. *Biosci Biotechnol Biochem* **70**, 10–21
- 8) Miller, D. V., Rauch, B. J., Harich, K., Xu, H., Perona, J. J., and White, R. H. (2018) Promiscuity of methionine salvage pathway enzymes in *Methanocaldococcus jannaschii*. *Microbiol* **164**, 969–981
- 9) Muchowska, K. B., Chevallot-Beroux, E., and Moran, J. (2019) Recreating ancient metabolic pathways before enzymes. *Bioorg Med Chem* **27**, 2292–2297
- 10) Broderick, W. E., Hoffman, B. M., and Broderick, J. B. (2018) Mechanism of radical initiation in the radical S-adenosyl-L-methionine superfamily. *Acc Chem Res* **51**, 2611–2619
- 11) Zelcbuch, L., Lindner, S. N., Zegman, Y., Slutskin, I. V., Antonovsky, N., Gleizer, S., Milo, R., and Bar-Even, A. (2016) Pyruvate formate-lyase enables efficient growth of *Escherichia coli* on acetate and formate. *Biochemistry* **55**, 2423–2426
- 12) Russell, M. J., and Martin, W. (2004) The rocky roots of the acetyl-CoA pathway. *Trends Biochem Sci* **29**, 358–363
- 13) 林秀行 (2022) 前生物的合成におけるイミダゾール・イミダゾリウムの役割. ビタミン **96**, 248–253