

報道機関 各位

資料提供 令和8年9月3日
秋田県立大学
生物資源科学部 応用生物科学科
助教 牟田口 祐太 [専門:応用微生物学]
TEL 018-872-1780
【広報担当】
ディレクター 佐藤 琢麻
TEL 018-872-1521
E-mail: koho_akita@akita-pu.ac.jp

腸内細菌に新しい D-アミノ酸合成酵素を発見 ～ヒト腸内細菌 *Phocaeicola dorei* の D-アラニン・D-セリン産生と新規キメラ酵素の発見～

秋田県立大学 生物資源科学部 応用生物科学科の牟田口祐太助教 [専門: 応用微生物学] (微生物機能研究グループ) らの共同研究チームは、

- ヒト腸内細菌 *Phocaeicola dorei* が D-アラニンと D-セリンを産生することを明らかにしました。
- これまで報告例のない、MurF リガーゼ様ドメインを持つ新しいアラニンラセマーゼ (キメラ酵素) を世界で初めて発見しました。
- 新規キメラ酵素が D-アラニンだけでなく D-セリンの生合成にも関与する可能性と、特徴的な MurF リガーゼ様ドメインが酵素活性を調節する可能性を示しました。
- 同様の酵素がヒト腸内細菌を多く含む *Bacteroidota* 門などに広く分布し、酵素融合を介した興味深い進化過程を経て誕生した可能性を示しました。

本研究の成果は国際学術誌「BMC Microbiology」に掲載されました。

■ 概要

近年、D-アミノ酸は生物にとって重要な生理機能を担うことが明らかとなり、ヒトでは D-セリンが神経伝達、D-アラニンなどが腎臓の機能に関与することが知られています。これらの D-アミノ酸は食品や体内酵素だけでなく、腸内細菌によっても供給されることが分かってきましたが、どの細菌がどのような仕組みで D-アミノ酸を産生しているのかは十分に解明されていませんでした。

本研究では、日本人の腸内に存在する細菌 *Phocaeicola dorei* に着目し、D-アミノ酸産生能とその分子機構を解析しました。その結果、本菌が D-アラニンおよび D-セリンを産生することを明らかにしました。さらに、D-アラニン合成を担う酵素を解析したところ、一般的なアラニンラセマーゼ (Alr) の N 末端側に MurF リガーゼ様ドメイン (MurF' ドメイン) が融合した、これまで

報告例のない新規キメラ酵素（MurF'-Alr）を発見しました。組換え酵素を用いた解析では、本酵素が D-アラニン効率よく生成するとともに、D-セリン生成にも関与する可能性が示されました。また、MurF リガーゼ様ドメインを欠失させると基質親和性や反応速度が低下したことから、この特徴的なドメインが酵素活性を調節している可能性が示されました。

さらに、公共データベースに登録された細菌ゲノムの解析により、MurF'-Alr 類似酵素はヒト腸内細菌を多く含む *Bacteroidota* 門を中心とした限られた細菌群に分布し、通常の Alr とは異なる進化過程を経て誕生した可能性が示唆されました。

本研究は、ヒト腸内細菌における D-アミノ酸産生機構の理解を深めるとともに、腸内細菌の酵素進化の仕組みの解明に繋がる成果として期待されます。

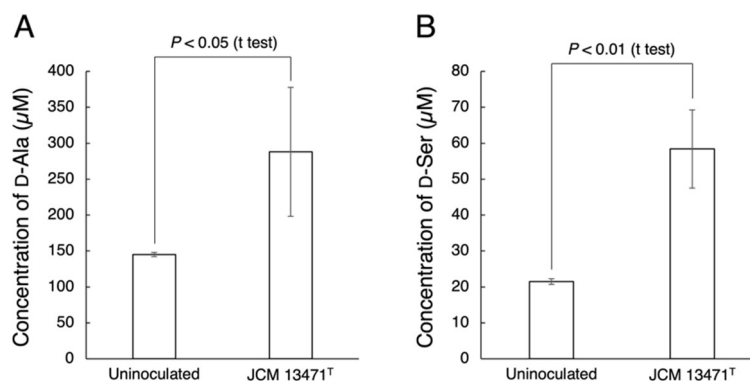


図 1. *P. dorei* JCM 13471^T の培養液中 D-アラニン (A) および D-セリン (B) 濃度
(出典: 原著論文 Figure 3)

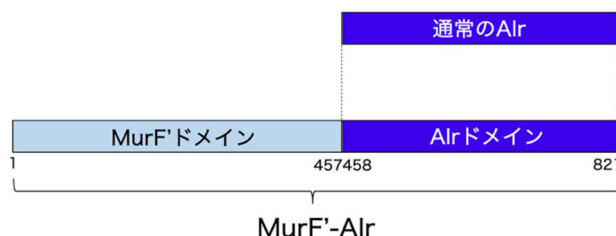


図 2. 通常の Alr と新規キメラ酵素（MurF'-Alr）のドメイン構造の比較
(プレスリリース用に新規作成。論文未掲載)

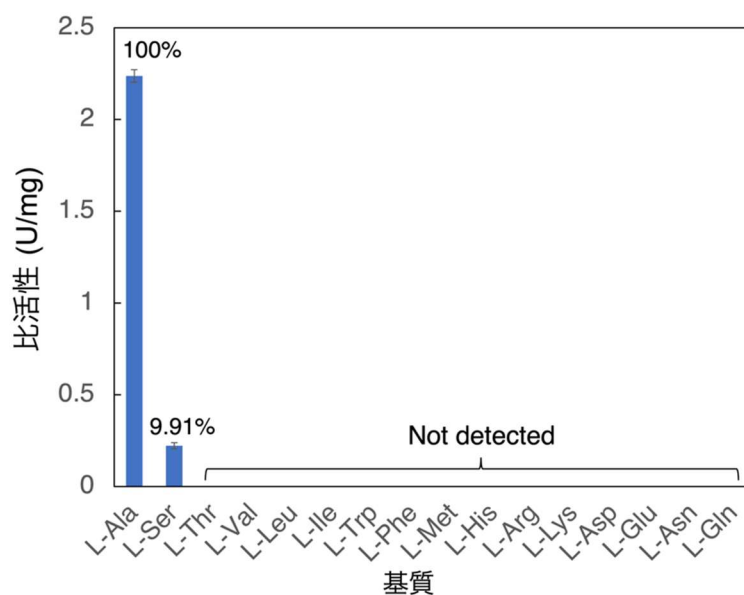


図 3. 新規キメラ酵素 (MurF'-Alr) の各 L-アミノ酸に対するラセマーゼ活性
(原著論文中 Table 1 を基にプレスリリース用に作成)

表 1. 新規キメラ酵素 (MurF'-Alr) と MurF' ドメイン欠損変異型酵素の
反応速度論的パラメーター
(原著論文中 Table 3 を基にプレスリリース用に作成)

酵素	基質	K_m (mM)	V_{max} (U/mg)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_m ($mM^{-1} \cdot s^{-1}$)
MurF'-Alr	L-アラニン	43.1 ± 1.9	4.11 ± 0.01	6.41 ± 0.01	0.149 ± 0.006
	D-アラニン	25.6 ± 0.8	2.12 ± 0.03	3.31 ± 0.05	0.129 ± 0.003
変異型酵素	L-アラニン	231 ± 27	2.89 ± 0.25	2.01 ± 0.17	0.00873 ± 0.00025
	D-アラニン	90.8 ± 3.2	0.932 ± 0.017	0.647 ± 0.012	0.00713 ± 0.00015

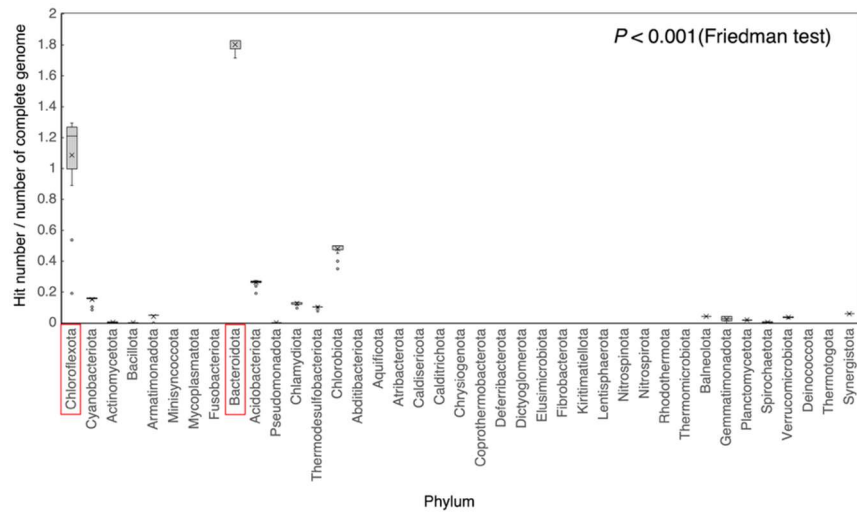


図 4. 細菌の各門における MurF'-Alr 類似タンパク質遺伝子の分布
(出典: 原著論文 Figure 6)

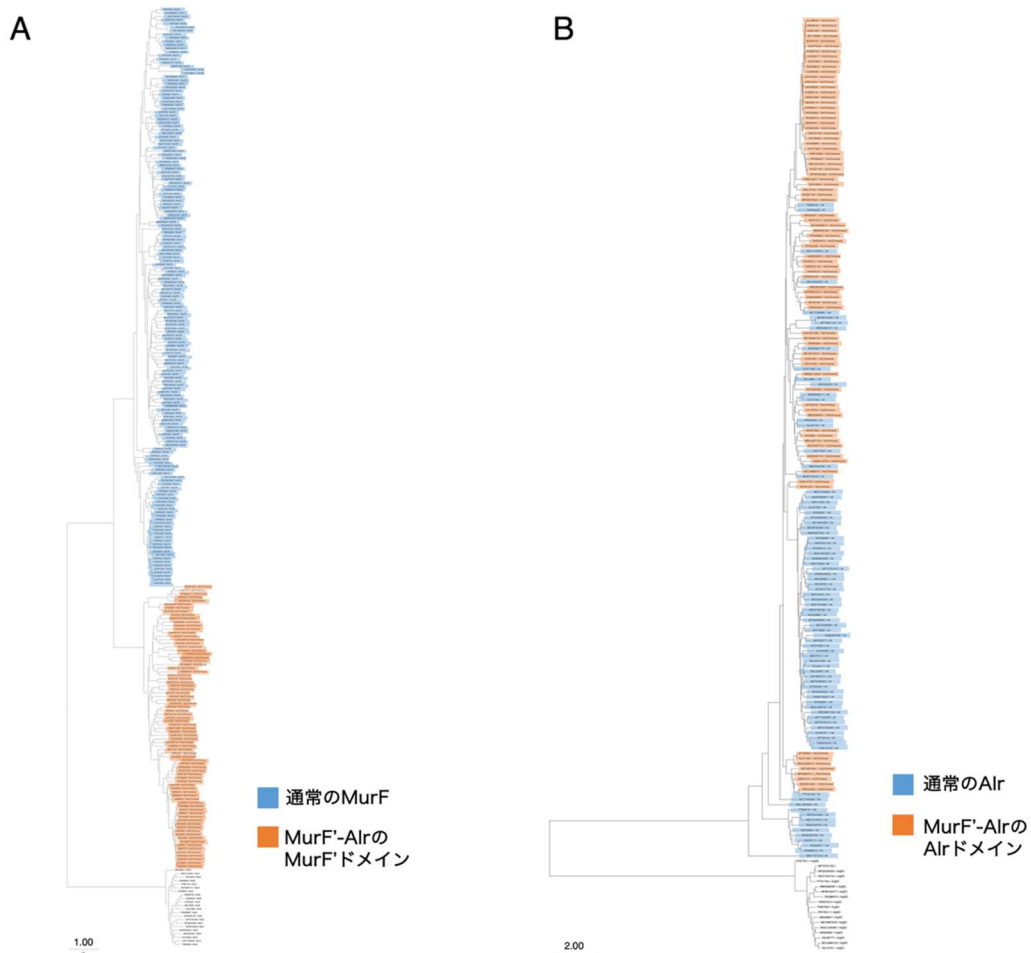


図 5. *Bacteroidota* 門における MurF'-Alr 類似タンパク質中の MurF' ドメイン (A) と Alr ドメイン (B) の系統解析
(原著論文中 Figure 8, 9 を基にプレスリリース用に作成)

■ 研究の内容

研究の背景

タンパク質を構成する α -アミノ酸には鏡像異性体である「L-アミノ酸」と「D-アミノ酸」が存在します。生物のタンパク質は L-アミノ酸で構成されており、天然に存在するアミノ酸のほとんどは L-アミノ酸であることから、長い間、D-アミノ酸は生物にとって重要な機能をもたないと考えられてきました。しかし近年、D-アミノ酸はさまざまな生物の体内に存在し、重要な生理機能を担うことが明らかになっています。ヒトを含む哺乳類では、D-セリンが脳内で神経伝達に関与するほか、D-アラニンをはじめとする D-アミノ酸が腎臓での代謝や体内動態に関与することが知られています。

哺乳類では、食品の摂取や体内酵素による生合成に加え、腸内細菌による産生も D-アミノ酸の重要な供給源となっていることが明らかになってきました。しかし、どのような腸内細菌が、どのようなメカニズムで D-アミノ酸産生に関与しているのかについては、いまだ十分には明らかになっていません。そこで本研究では、日本人の腸内に存在する細菌の一種である *Phocaeicola dorei* に着目し、本菌の D-アミノ酸産生能と、それに関与すると考えられる D-アミノ酸合成酵素の酵素学的性質を明らかにすることを目的としました。

研究の成果

1) *P. dorei* の D-アミノ酸産生を確認

P. dorei の標準株である JCM 13471^T を培養し、培養液中の D-アミノ酸濃度を分析しました。その結果、*P. dorei* の培養液では菌を加えずに培養した対照と比較して、D-アラニンの濃度が約 150 μ M、D-セリンの濃度が約 40 μ M 増加していました（図 1）。このことから、*P. dorei* が D-アラニン、D-セリンの産生能力を有していることが明らかとなり、腸内細菌叢における D-アミノ酸産生に関与している可能性が示唆されました。

2) 新しいドメイン構造を持つアラニンラセマーゼを発見

ほとんど全ての細菌は、L-アラニンと D-アラニンのラセミ化反応を触媒するアラニンラセマーゼ (alanine racemase: Alr) を有しています。そこで、*P. dorei* の D-アラニン生成を担う酵素を探索するため、JCM 13471^T 株のゲノム情報から Alr 遺伝子を検索しました。その結果、*P. dorei* JCM 13471^T の Alr は、一般的な Alr ドメインに加えて N 末端側に MurF リガーゼ様ドメイン (MurF' ドメイン) を有する、特徴的なキメラ型の構造を持つことが示されました（図 2）。通常、細菌の Alr と MurF リガーゼは細胞壁合成系に関与するそれぞれ独立した酵素です。このような構造を持つ酵素はこれまでに報告されておらず、本酵素は新しいタイプの Alr であると考えられました。

3) 新規キメラ酵素が D-アラニンと D-セリン生合成に関与する可能性を示唆

見出したキメラ酵素 (MurF'-Alr) の遺伝子を大腸菌で発現させ、精製した組換えタンパク質を用いて酵素学的性質を解析しました。その結果、本酵素はアラニンのラセミ化反応を触媒するAlr活性を有することが確認されました。また、L-セリンに対しても活性を示し、その活性はL-アラニンを基質とした場合の約10%でした (図3)。これらの結果から、本酵素は*P. dorei*におけるD-アラニンおよびD-セリンの生合成の一部を担っている可能性が示されました。さらに、pHや温度が酵素活性に及ぼす影響や反応速度論的パラメーターを解析し、環境条件による酵素機能の変化や既知のAlrとの機能的な違いを評価するための基礎的な知見を得ました。

4) MurFリガーゼ様ドメインがAlr活性に影響する可能性を示唆

上述した通り、本酵素は通常のAlrドメインのN末端側に、MurFリガーゼに類似したドメイン (MurF'ドメイン) を持つことが特徴です。そこで、このMurF'ドメインがAlr活性に及ぼす影響を調べるため、MurF'ドメインを欠失させた変異型酵素を作製し、反応速度論的パラメーターを解析しました。その結果、MurF'ドメインを欠失させると K_m が増加し、 k_{cat} が減少しました (表1)。これらの結果から、MurF'ドメインがAlrドメインと基質の親和性や酵素反応の回転数に影響を与えている可能性が示されました。すなわち、本酵素は単にAlrに別の構造が付加されたものではなく、その特徴的なドメイン構造によって酵素機能が調節されている可能性があります。

5) MurF'-Alr類似酵素が腸内細菌を含む特定の細菌群に分布することを示唆

NCBI (National Center for Biotechnology Information) に登録されている多数の細菌ゲノムを解析した結果、MurF'-Alrと同様のドメイン構造を持つタンパク質が、主に*Bacteroidota*門や*Chloroflexota*門に分布することが分かりました (図4)。さらに、通常のMurFリガーゼやAlrも含めた系統解析を行ったところ、MurF'-Alrを構成するMurF'ドメインとAlrドメインでは異なる進化パターンが認められました。特に*Bacteroidota*門では、MurF'ドメインは通常のMurFとは独立した系統を形成する一方、MurF'-AlrのAlrドメインは通常のAlrの系統の中に散在していました (図5)。これらの結果から、このキメラ酵素は単一の祖先から受け継がれたのではなく、既存のAlr遺伝子にMurF様配列が複数回融合した、あるいは融合と喪失を繰り返しながら進化してきた可能性が示されました。*Bacteroidota*門にはヒト腸内に多く存在する細菌が含まれることから、本酵素は、ヒト腸内細菌におけるD-アミノ酸産生機構の解明だけでなく、腸内細菌における酵素進化を理解するうえでも重要な研究対象になると考えられます。

■ 成果掲載誌

本研究成果は、国際学術誌「BMC Microbiology」誌に、令和8年7月27日に掲載されました。

○論文タイトル

『An alanine racemase with a novel domain architecture: a chimeric enzyme with an N-terminal Mur ligase-like domain in *Phocaeicola dorei* and its distribution in the phyla *Bacteroidota* and *Chloroflexota* 』(新しいドメイン構造を持つアラニンラセマーゼ：*Phocaeicola dorei*に見出されたN末端にMurリガーゼ様ドメインを持つキメラ酵素と、*Bacteroidota*門および*Chloroflexota*門におけるその分布)

○著者

Yuta Mutaguchi, Takuya Tsukahara and Shigeki Kada

ODOI

<https://www.doi.org/10.1186/s12866-026-05424-7>

■ 研究体制

本研究は、以下機関の共同研究として行われました。

牟田口 祐太（秋田県立大学）

加田 茂樹（雪印メグミルク株式会社）

塚原 拓也（雪印メグミルク株式会社）

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

・秋田県立大学 生物資源科学部 応用生物科学科

助教 牟田口 祐太（むたぐち ゆうた）

TEL 018-872-1780 Email y-muta@akita-pu.ac.jp

<報道担当>

・秋田県立大学広報

ディレクター 佐藤 琢麻（さとう たくま）

TEL 018-872-1521 Email koho_akita@akita-pu.ac.jp

以上