

# イネ顆粒結合型デンプン合成酵素の立体構造解析 Crystallographic analysis of rice granule-bound starch synthase

門間充<sup>1</sup>, 岸根尚美<sup>1</sup>, 藤本瑞<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> 国立研究開発法人 農業生物資源研究所, 〒305-8602 つくば市観音台 2-1-2

Mitsuru Momma<sup>1</sup>, Naomi Kishine<sup>1</sup>, Zui Fujimoto<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> National Institute of Agrobiological Sciences, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba 305-8602, Japan

## 1 はじめに

デンプンは、グルコースが ADP-グルコースを経てデンプン合成酵素によってアミロースやアミロペクチンの非還元末端のグルコース残基と  $\alpha$ -1,4 グルコシド結合を形成することにより生合成される。デンプン合成酵素は顆粒結合型デンプン合成酵素 (GBSS) と可溶性デンプン合成酵素 (SSS) に大別される。GBSS はアミロースの生合成に関与し、SSS は枝分かれ酵素 (BE) とともにアミロペクチンの合成にかかわる。デンプン合成酵素についてはこれまで SSS、BE を中心にして生化学的・分子生物学的研究を含めた多くの研究が行われてきた。一方で、デンプン合成酵素の立体構造はこれまで明らかにされていなかった。我々はイネの GBSS-I の大腸菌によるタンパク質大量発現系の構築に成功した。さらに、X 線結晶構造解析により植物のデンプン合成酵素として世界初となる立体構造の決定に成功した[1]。しかし結晶構造解析の分解能が低く、活性中心の詳細構造を議論するまでには至っておらず、イネの GBSS-I のデンプン合成反応機構を議論するためにはさらに詳細な解析を行う必要があり、GBSS-I のデンプン合成機構を詳細に明らかにすることを目指し、更なる研究を進めている。

## 2 実験

大腸菌で発現させた GBSS-I の結晶を作製し、高エネルギー加速器研究機構放射光施設 (PF) において X 線回折データを取得した。糖転移酵素ファミリー 5 に属する微生物由来のグリコーゲン合成酵素 (EcGS) の構造を鋳型として用い、分子置換法により立体構造を決定した。合成反応機構を解明するため、酵素の基質となる ADP-グルコース、受容体であるマルトオリゴ糖との共結晶化条件の検討を進めている。

## 3 結果および考察

イネ GBSS-I の全体構造は EcGS と非常に類似し、N 末、C 末に 2 つのロスマンフォールドを持っていた (図 1)。一方で、活性中心付近の微妙な構造の違いやループ構造の有無に加え、他の酵素にはこれまで見られていない新規なジスルフィド結合が 2 つのドメイン間に存在すること (図 1 矢印)、および

この結合は植物の中でもイネ科の穀物種にのみ特異的に見いだされることを明らかにした。

糖との複合体結晶化条件の検討を進めたところ、マルトテトラオースとの共結晶化で作製した結晶が、従来の立方体ではなく、球状多面体結晶として現れた。この結晶の X 線回折データを取得したところ、空間群が立方晶系から正方晶系に変わったことが明らかとなった。構造決定には至っていないが新たな結晶を得ることができたため、GBSS-I の結晶化条件の精密化を行い、高分解能データの取得、構造決定を進めている。

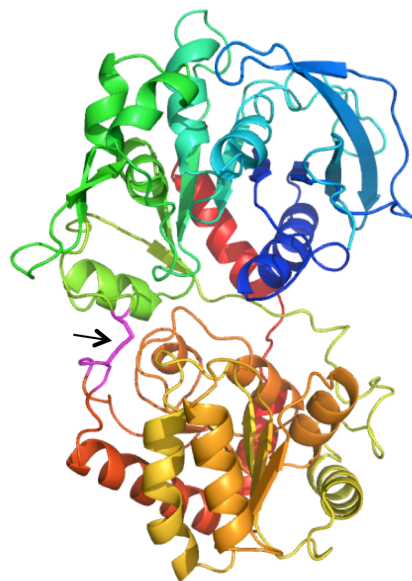


図 1 : イネ GBSS-I の結晶構造リボンモデル

## 謝辞

本研究は、一部文部科学省科学研究費補助金の支援のもとで行われた。

X 線データ測定においては PF スタッフの方々大変お世話になりました。ここに謝致します。

## 参考文献

[1] M. Momma & Z. Fujimoto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **76**, 8 (2012).

\* z u i @affrc.go.jp