

澱粉生合成に関わる酵素群の構造と機能の解明

Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of starch

鈴木龍一郎*, 鈴木英治

秋田県立大学生物資源科学部, 〒 010-0195 秋田市下新城野字街道端西 241-438

Mari Hayashi, Ryuichiro Suzuki*, Eiji Suzuki

Department of Biological Production, Akita prefectural university, 241-438, Kaidobata-nishi Shimoshinjo-nakano, Akita, 010-0195, Japan

1 はじめに

植物が蓄積する澱粉はグルコース分子のみから構成される貯蔵多糖であり、規則正しい分岐を伴ったアミロペクチン分子を主成分としている。一方、バクテリアが蓄積するグリコーゲンには、分岐パターンに規則性は見られない。これら貯蔵多糖の性質は、分岐パターンに依存する。枝作り酵素 (BE; EC 2.4.1.18) は分岐を作る酵素であり、分岐パターンの制御に関わることが知られている [1]。

シアノバクテリアは一般にグリコーゲンを蓄積するが、一部の単細胞種は澱粉を蓄積することが見出されている [2, 3]。澱粉生産性シアノバクテリアは、BE アイソザイムを 2 種もしくは 3 種持つという特徴を示すことが報告されている [2]。澱粉生産性シアノバクテリア *Cyanothece* sp. ATCC 51142 株は、3 種類の BE アイソザイム (BE1, BE2, BE3) を有している。これら BE アイソザイムは、澱粉生合成においてどのような役割を果たしているのか、興味を持たれる。本研究では、これら 3 種の BE アイソザイムの酵素特性と立体構造の解明を行うことで、それぞれの BE アイソザイムが担う役割を解明する手がかりを得ることを目的とした。

2 実験

シアノバクテリア ATCC 51142 株由来 BE1, BE2, および BE3 の大腸菌内での大量発現系を構築し、アフィニティーおよびゲルろ過クロマトグラフィーで精製し、精製酵素標品を得た。これら酵素標品を用いて結晶化し、大腸菌由来 BE の結晶構造 (PDB ID: 1M7X) [4] を用いた分子置換法で構造解析を行った。

3 結果および考察

BE1, BE2, および BE3 の結晶化を行ったところ、BE1 について良質な結晶が得られた。そこで BE1 の構造解析を行い、分解能 1.85 Å でリガンドフリー状態の結晶構造を決定した。BE1 の全体構造は、ドメイン N (図 1 青), CBM48 (図 1 シアン), ドメイン A (図 1 緑; 触媒ドメイン), ドメイン C (図 1 赤) から構成されていた。全ドメインを含むほぼ全長 (残基 5-759) の構造決定に成功した。ドメイン A の中央には活性中心があり、3 つの触媒残基が位置していた (図 1 マゼンタ)。マグネシウムイオン

の存在は BE1 の酵素活性に影響を与えないが、酵素表面 4 ヶ所に黒丸で示したマグネシウムイオンが結合していた。現在、マルトオリゴ糖と複合体を形成した状態での BE1 の結晶構造解析を行っている。

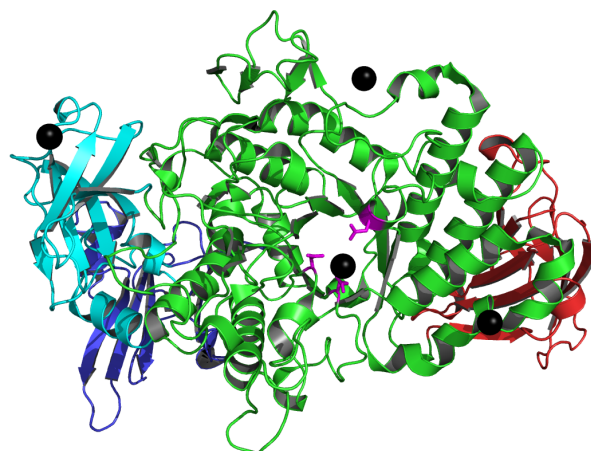


図 1 : BE1 の全体構造 (PDB ID: 5GQU)。

謝辞

本研究は、島津科学技術振興財団研究開発助成金および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。

実験をサポートしてくださった KEK-PF スタッフの方々、農研機構の藤本瑞先生、東京大の五十嵐圭日子先生および石田卓也先生、静岡県立大の伊藤創平先生に感謝いたします。

参考文献

- [1] Y. Nakamura *et al.*, *Plant Cell Physiol.* **51**, 776-794 (2010).
- [2] E. Suzuki *et al.*, *Plant Cell Physiol.* **54**, 465-473 (2013).
- [3] E. Suzuki and R. Suzuki, *J. Appl. Glycosci.* **60**, 21-27 (2013).
- [4] M.C. Abad, *et al.*, *J. Biol. Chem.* **277**, 42164-42170 (2002).

成果

1. M. Hayashi *et al.*, *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* **71**, 1109-1113 (2015).

* ryuichi@akita-pu.ac.jp