

新規な特殊アラビナン分解酵素群の結晶構造解析 Crystallography of novel enzymes for degradation of special arabinan

中島千穂¹, 山田千早^{1,2}, 荒川孝俊^{1,2}, 伏信進矢^{1,2*}

¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科、〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Chiho NAKASHIMA¹, Chihaya YAMADA^{1,2}, Takatoshi ARAKAWA¹, and Shinya FUSHINOBU^{1,*}

¹Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

²Collaborative Research Institute for Innovative Microbiology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

抗酸菌には結核菌・らい菌などの重篤な症状を起こす病原菌が含まれている。抗酸菌の細胞壁には糖脂質リポアラビノマンナンや多糖アラビノガラクトンがあり、いずれも複雑な構造からなるが、その細胞外側に向けた部分は、植物などのアラビナンの鏡像体のアラビノースからなる多糖部分領域を持つ。我々は、この特殊なアラビナン部分の分解酵素を発見した。エンド型の分解酵素が4種類(MA1066, MA1067, MA1071, MA1076)、エキソ型の分解酵素が1種類(MA1064)発見されており、本課題ではその結晶構造を決定し、基質およびそのアナログとの複合体構造を得ることを目的として実験を行った。



図1 : MA1067 の立体構造

2 実験

各サンプルで結晶化を行い、MA1067 と MA1064 で良質な結晶が得られた。MA1067 では空間群 $P2_1$ の結晶が得られた。SeMet タンパク質で結晶を調整し、Se 原子の吸収端付近(peak)の波長で分解能 1.78 Å のデータ測定を行った。また、MA1067 の native 結晶を用いてデータ測定を行い、1.54 Å 分解能のデータセットを測定した。MA1064 では $P2_12_12_1$ 、 $P2_1$ 、 $P6_322$ の3種類の空間群の結晶が得られた。空間群 $P2_12_12_1$ の結晶では分解能 2.38 Å のデータセットが得られた。MA1064 の回折データの初期位相は、構造ゲノミクスで決定された機能未解明の構造(配列同一性約 30%)をテンプレートした分子置換方で決定した。さらに、両者の結晶を用いて、共結晶化およびソーキング法により複合体結晶を調製した。アラビノース単糖やオリゴ糖などの様々なリガンドを試したが、複合体構造は得られなかった。



図2 : MA1064 の立体構造

3 結果および考察

MA1067 は native 構造で $R/R_{\text{free}} = 19.7/23.3\%$ まで精密化した立体構造を決定することができた(図1)。N 末端側が β プロペラフォールドの触媒ドメイン、C 末端側が β サンドイッチドメインからなっていた。MA1064 は2つの β サンドイッチドメインからなっていた。

4 まとめ

今後は基質等との複合体構造を決定して、両酵素の機能についての情報を得る予定である。

謝辞

実験をサポートして下さった KEK および PF のみなさん、そして、鹿児島大学と理化学研究所の皆様をはじめとする共同研究者のみなさんに感謝いたします。

* asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp