

納豆菌 YabJ 変異体タンパク質の多量体構造解明 Oligomerization of the YabJ mutant protein

藤本 瑞^{1*}, 岸根 尚美¹, 木村 啓太郎²

¹農業・食品産業技術総合研究機構 高度分析研究センター
〒305-8518 茨城県つくば市観音台 2-1-2

²農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門,
〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

Zui FUJIMOTO^{1,*} Naomi Kishine¹ and Keitarou KIMURA²

¹Research Center for Advanced Analysis, National Agriculture and Food Research Organization,
2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8518, Japan

²Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization,
2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

1 はじめに

納豆菌 *Bacillus subtilis* (natto)の生産するポリ- γ -グルタミン酸 (poly- γ -glutamate; γ PGA) は、グルタミン酸が γ -カルボキシル基と α -アミノ基の間で重合した分子量約 200 万ダルトン (2MDa) にも及ぶポリペプチドで、その生産はクオラムセンシングとその後の複雑なカスケード機構により制御されている。degQ 遺伝子は γ PGA 合成に関わる 1 因子でありその破壊株は γ PGA 生産能を失う。 γ PGA 生産制御に関わる新たな因子を探索するため degQ 遺伝子破壊株の γ PGA 生産を回復させる復帰抑制変異のスクリーニングを試みたところ、得られた抑制変異株では yabJ 遺伝子に 1 アミノ酸置換変異 (Ser103→Phe) が存在した。変異型 yabJ 遺伝子を親株 (degQ 遺伝子破壊株) に導入したところ、 γ PGA 生産と γ PGA 合成遺伝子発現が回復した[1]。

YabJ タンパク質は YjgF/YER057c/UK114 ファミリーに属するエナミン・イミン化合物の解毒 (脱アミノ化) 酵素であると報告されている。納豆菌においては、YabJ タンパク質は酵素ではなく、シグナル伝達のカスケード機構内の役割を担うと考えられているが、YabJ タンパク質のアミノ酸置換変異により yabJ 遺伝子産物が活性型となり、 γ PGA 合成を直接制御する下流の転写因子である DegU の発現量を増加させたと推定された[1]。

YabJ は、1999 年に決定された結晶構造ではホモ 3 量体を形成しており、そのサブユニット間に形成される空隙内で脱アミノ反応を行う酵素であることが報告されている[2]。見出された変異体を作成し大腸菌で発現したところ、脱アミノ反応活性については確認されなかったが、Native 電気泳動およびゲル濾過クロマトグラフィーでは変異体タンパク質は野生型タンパク質よりも大きな分子量を有することが示され、変異が入ることによってその立体構造や多量

化機構に変化が生じた可能性が示唆された。1 アミノ酸変異によりどのような立体構造変化が起こり、 γ PGA の生産回復が引き起こされるのかを明らかにするために、機能獲得変異型 YabJ (YabJ^{S103F}) の立体構造解析を行なった[3]。

2 実験

YabJ 野生型、YabJ 変異体タンパク質を大腸菌で大量発現させ、結晶化し X 線回折データを Photon Factory の AR-NW12A で取得し、分子置換法を用いて構造決定した。

3 結果および考察

結晶構造解析の結果、野生型 YabJ は三量体構造、YabJ 変異体タンパク質は四量体構造を取っていた (図 1)。両構造を比較すると、変異アミノ酸 Phe103 が位置する 5 番目の β ストランドが変異前後でフリップしていた (図 2)。5 番目の β ストランドは野生型での三量体形成に関与しており、構造変化により三量体が形成できなくなり、代わりに二量体が形成され、さらに二量体が二量体化することにより四量体が形成されたものと考えられた (図 3)。

4 まとめ

degQ 遺伝子破壊株の γ PGA 生産回復は、YabJ タンパク質の 1 アミノ酸変異 (Ser103→Phe) により引き起こされた三量体→四量体構造変化によるものと考えられる。YabJ 変異体タンパク質がどのようにして転写因子 degU を発現誘導するかそのメカニズムは依然として不明であり、今後の解析により明らかにしたい。YabJ をはじめ、多くの YjgF/YER057c/UK114 ファミリーの機能は不明であり、今回の YabJ の多量化機構が機能解明への手がかりになることを期待している。

謝辞

X線回折データ測定においてはPFスタッフの方々に大変お世話になりました。ここに感謝致します。

参考文献

- [1] L.T.T. Hong, *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.* **128**, 690-696 (2019).
- [2] S. Sinha, *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **96**, 13074-13079 (1999).
- [3] Z. Fujimoto, *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **85**, 297-306 (2021).

* zui @affrc.go.jp

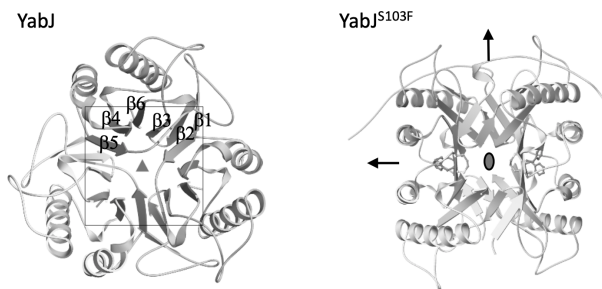


図1：YabJ, YabJ 変異体タンパク質の結晶構造

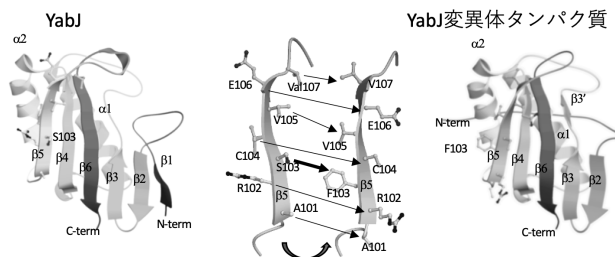


図2：YabJ, YabJ 変異体タンパク質のプロトマー構造比較

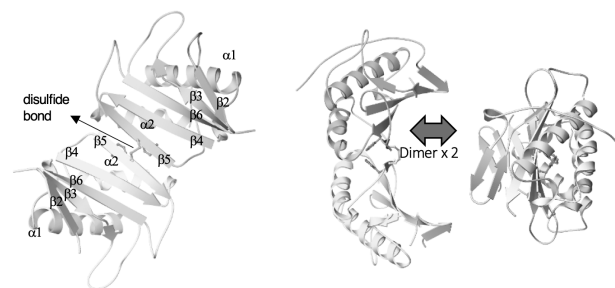


図3：YabJ 変異体タンパク質の四量体形成機構