

細菌のレボグルコサン代謝酵素と輸送体の構造機構解明 Structural and functional studies on enzymes and transporters in levoglucosan metabolism by bacteria

高橋芽生¹, 山川 凱生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、² 東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構、〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Mei TAKAHASHI¹, Yoshiki YAMAKAWA¹, Chihaya YAMADA^{1,2}, Takatoshi ARAKAWA^{1,2}, and Shinya FUSHINOBU^{1,2*}

¹Department of Biotechnology, 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

レボグルコサン(LG)はグルコースの1位と6位が脱水縮合した化合物であり、セルロースやデンプンなどのグルコースのポリマーの熱分解によって生じる。LGは山火事などから大量に作られており、一説には地上で毎年最大1億トンもの量が排出されると推定されている。環境科学や古気候学ではバイオマス燃焼寄与の指標物質として環境中のLGの測定がさかんに行われている。LGは身近に豊富に存在する未利用資源として注目を集めており、微生物のLG代謝を利用してバイオ燃料を生産する研究が行われている。土壌細菌はLGの3位のヒドロキシ基をNAD⁺により酸化して3-keto LGを生成するLG脱水素酵素(LGDH)を初発とする代謝経路を持つ。我々はLGDHの遺伝子を同定して詳細な酵素学的解析を行い、結晶構造解析によってその基質認識と反応機構の詳細を明らかにした[1]。その後さらに、好熱性のLG資化細菌である*Bacillus smithii* S-2701M株を用いて、LGの代謝系はLGDHに加えて3種類の酵素(LgdB1, LgdB2, LgdC)からなることを明らかにした[2]。LG代謝遺伝子群の近傍にはABCトランスポーターの(輸送体)遺伝子が存在することから、この輸送体の基質結合タンパク質がLGを特異的に結合して菌体内に取り込むシステムを持つと考えられる。本課題では、細菌の持つLG代謝系の構造生物学的な研究を行っている。

2 実験

S-2701M株および*Arthrobacter*属細菌の持つ各種のLG代謝酵素の遺伝子を大腸菌にて異種発現し、タンパク質を精製して、結晶化を行った。KEK-PFの構造生物学ビームラインを利用してX線回折測定実験を行った。

3 結果および考察

結晶化を試みたサンプルのうち、S-2701M株のLgdB1で良質な結晶が得られ、最大分解能1.56 Åで

立体構造を決定することに成功した(表1、図1)。また、MnCl₂を加えた培地で培養した大腸菌で異種発現させたサンプルでは、活性中心にMn²⁺と見られる金属原子の電子密度が観測された。

表1: LgdB1のX線結晶構造データセット

Dataset	LgdB1	LgdB1 + Mn ²⁺
Beamline	SLS-X06SA	PF-AR NW12A
Max. resol. (Å)	1.56	2.00
R/R _{free}	0.193/0.212	0.207/0.249

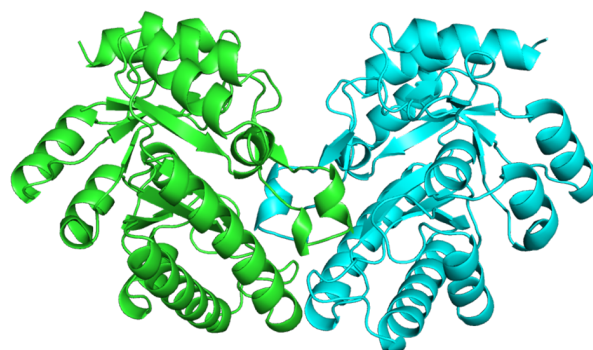


図1: LgdB1の結晶構造

4 まとめ

今後、LgdB1の基質および反応産物との複合体構造を決定し、その他のLG代謝酵素(タンパク質)の構造機能解析もすすめる予定である。

謝辞

実験をサポートして下さったKEKおよびPFの皆様、そして、静岡大学と新潟大学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。

参考文献

- [1] Sugiura et al. *J. Biol. Chem.* **293**, 17375 (2018)
[2] Kuritani et al. *Sci. Rep.* **10**, 20066 (2020)

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