

澱粉生合成に必要な枝作り酵素および枝切り酵素の構造機能相関の解明 Elucidation of structure-function relationships of branching enzyme and debranching enzyme involved in starch biosynthesis

木村友亮, 佐々木 柁秀, 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

Yusuke Kimura, Masahide Sasaki, 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

枝切り酵素 (DBE; GlgX, ISA: EC 3.2.1.68; PUL: EC 3.2.1.41) は澱粉およびグリコーゲンを基質として, α -1,6-結合から成る分岐点の加水分解反応を触媒することで, これら多糖の分解に関わっている。シアノバクテリアは種によって GlgX アイソザイムを複数 (最大 4 種) 持つが, 各アイソザイムの多糖代謝における役割は不明である。澱粉生産性シアノバクテリア *Cyanobacterium* sp. CLg1 株は 2 種の GlgX アイソザイム (GlgX1, GlgX2) を持つ。これまでに GlgX は多糖の分解に関わるとされてきたが, 興味深いことに GlgX2 は欠損変異株の解析から, 澱粉の合成に関わることが示されている [1]。しかし, GlgX2 の構造と機能は解析されていなかった。そこで本研究では, GlgX2 の構造を明らかにすることを目的とした。

2 実験

Cyanobacterium sp. CLg1 株由来 GlgX2 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た。得られた精製酵素標品を結晶化し, 緑藻クラミドモナス由来 ISA1 の結晶構造 (PDB ID: 4OKD) [2] 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

野生型 GlgX2 のリガンドフリー状態での結晶構造を分解能 2.30 Å で解明した。GlgX2 の立体構造は, CBM48 (図 1, シアン), ドメイン A (触媒ドメイン; 図 1, 緑), およびドメイン C (図 1, 赤) から構成されていた。マルトオリゴ糖と複合体を形成した状態の結晶構造を解明するためにソーキング法を試みたが, 複合体の構造は得られなかった。そこで, 緑藻由来 ISA1 の構造 (4OKD) に結合したマルトヘプタオース (G7) を GlgX2 の構造に重ね合わせたモデルを作成した (図 1B)。G7 は GlgX2 の活性部位クレフトの溝に結合していたが, 非還元末端側のグルコース残基 (図 1B, 7) は壁構造と立体障害を起こしていた (図 1B, 黒矢印)。GlgX が切断する分岐鎖の長さは, この壁構造が決めていると推測された。

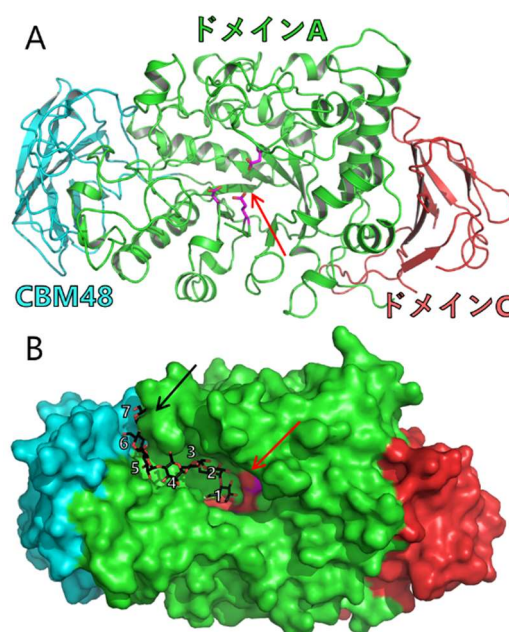


図 1 : GlgX2 の全体構造

結合した G7 は黒で表示した。赤矢印は活性部位, 黒矢印は非還元末端側の構造 (壁) を示す。

謝辞

本研究は, 文部科学省科学研究費補助金の支援のもとで行われた。実験をサポートくださった KEK-PF スタッフの方々, 東京大の五十嵐圭日子先生および石田卓也先生に感謝いたします。

参考文献

- [1] U. Cenci *et al.* *Plant Cell* **25**, 3961–3975 (2013).
- [2] L. Sim *et al.* *J. Biol. Chem.* **289**, 22991–23003 (2014).

成果

- 1. 鈴木龍一郎, 木村友亮, 佐々木 柁秀, Christophe Colleoni, Steven G. Ball, 藤田直子, 鈴木英治, 日本応用糖質学会平成 29 年度大会, 2017 年 9 月 6 日
 - 2. 木村友亮, 鈴木龍一郎, 佐々木 柁秀, Christophe Colleoni, Steven G. Ball, 藤田直子, 鈴木英治, 日本農芸化学会 2017 年度大会, 2017 年 3 月 19 日
- * ryuichi@akita-pu.ac.jp