

澱粉代謝に関わる酵素群の構造機能解析

Structural and biochemical studies of enzymes involved in starch metabolism

生田あいり, 鈴木龍一郎*, 鈴木英治

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

Airi Ikuta, 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

ホスホリラーゼ (Pho; EC 2.4.1.1) は一次構造の類似性から Glycosyl Transferase (GT) ファミリー35 (GT35) に属し, α -1,4-結合から成るグルカン鎖の加リン酸分解反応を触媒することで, 澱粉およびグリコーゲンの分解に関わっている。ほぼ全てのシアノバクテリアは光合成産物としてグリコーゲンを蓄積するが, 珍しいことに澱粉を生産する種もわずかに存在する [1]。澱粉生産性シアノバクテリア *Crocospaera subtropica* ATCC 51142 株は3種のGT35型Phoアイソザイム (cce_1603, cce_1629, cce_5186) を持つが, これまでにシアノバクテリア由来 GT35型Phoの構造と機能は解明されていなかった。そこで本研究では, 澱粉代謝における cce_1603, cce_1629, および cce_5186 の役割に関する知見を得るため, これらアイソザイムの構造を明らかにすることを目的とした。

2 実験

51142株由来 cce_1603, cce_1629, および cce_5186 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。得られた精製酵素を結晶化したところ, マルトヘプタオース (G7) 存在下で cce_1603 についてのみ構造解析に適した結晶が得られた。大腸菌由来 GT35 型Phoの結晶構造 (PDB ID: 2AW3) [2] を用いた分子置換法によって, cce_1603 の構造を決定した。

3 結果および考察

野生型 cce_1603 がマルトヘプタオース (G7) と結合した状態での結晶構造を分解能 3.90 Å で解明した。cce_1603 は, サブユニット A (図1, シアン) およびサブユニット B (図1, 緑) から成るホモダイマー構造をとっていた。両サブユニットの中央部分にはGT35 型Phoに保存されたリジン残基 (K671) が存在し, K671 のアミノ基は補酵素 (ビタミン B₆ の誘導体であるピリドキサル-5'-リン酸 (PLP)) の4'位のアルデヒド基と共有結合 (シッフ塩基) を形成していた (図1, 黒矢印)。サブユニットAのPLP付近から図1中の下部にかけて, 共結晶化の際に添加したG7が結合していた (図1, 赤矢印)。これは, 大腸菌由来 GT35Pho [3] およびコムギ由来 GT35Pho [4] の研究で報告されている基質結合部位 (サブサ

イト) と一致していた。以上のことから cce_1603 の全体構造の特徴は, これまでに立体構造が明らかにされている GT35 型Pho のものと共通していることが示された。

4 まとめ

本研究で明らかにした cce_1603 の構造は極めて低い分解能 (3.90 Å) であったため, 基質結合様式と反応の仕組みの詳細は明らかにできなかった。今後は, 高分解能での構造解析を目指していきたい。

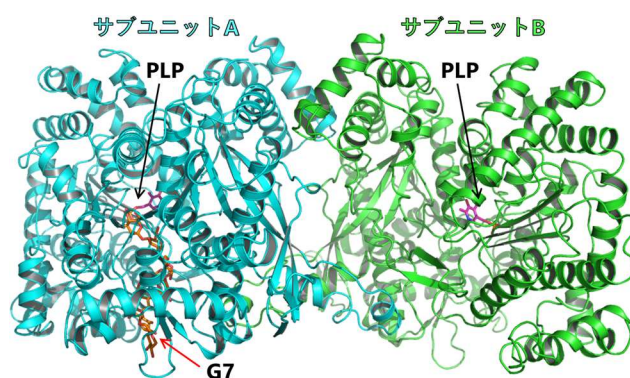


図1 : cce_1603 の全体構造

結合した G7 は橙色で示す (赤矢印)。PLP はマゼンタで示す (黒矢印)。

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。実験をサポートしてくださった KEK-PF スタッフの方々に感謝いたします。

参考文献

- [1] Y. Nakamura *et al.* *Plant Cell Physiol.* **46**, 539–545 (2005).
- [2] M. Campagnolo *et al.* *Arch. Biochem. Biophys.* **471**, 11–19 (2008).
- [3] K.A. Watson *et al.* *EMBO J.* **18**, 4619–4632 (1999).
- [4] J.A. Cuesta-Seijo *et al.* *PLoS One* **12**, e0175488–e0175488 (2017).

成果

1. 生田あいり, 鈴木龍一郎, 鈴木英治, 日本応用糖質科学会 2023 年度大会, 2023 年 9 月 13 日

* ryuichi@akita-pu.ac.jp