

新規系統グループの β -1,2-グルカナーゼの立体構造解析 Structural analysis of β -1,2-glucanases in new phylogenetic groups

中島将博^{1*}, 元内省¹

¹東京理科大学 創域理工学部 生命生物科学科

〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

Masahiro NAKAJIMA^{1,*} and Sei MOTOUCHI¹

¹ Tokyo University of Science, Faculty of Science and Technology,

Department of Applied Biological Science

2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan

1 はじめに

β -1,2-グルカナーゼ (SGL) は β -1,2-グルカン をエンド型で加水分解して β -1,2-グルコオリゴ糖を生成する酵素である。2017年にはSGLが細菌より初めて同定され、新規系統群としてGH144ファミリーが創設された[1]。しかし、詳細な系統解析を行うと、GH144と遠縁の機能未知の系統グループが複数存在することが明らかとなった。そこで、これらの機能解析を行ったところ、3つのグループでSGL活性が見出された。本研究では、これらのグループのうち、2つのグループの酵素 (*Endozoicomonas elysicola* 由来 SGL, EeSGL; *Photobacterium gaetbulicola* 由来 SGL, PgSGL3) について立体構造解析を行った。さらにGH144ファミリーの酵素 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 由来 SGL, XcSGL) については基質との複合体構造の取得を行うことにより、新規系統グループの酵素が活性を発揮するメカニズムを考察した。

2 実験

得られた全ての結晶は、KEK-PFの構造生物学ビームラインにおいて回折データを取得した。データベース上のAlphaFold2により予測された構造を分子置換法のモデルとして使用して初期位相の決定を行い、EeSGL、PgSGL3、XcSGLの触媒残基変異体について立体構造を取得した。XcSGLについては β -1,2-グルカンとの複合体構造を取得した。

3 結果および考察

EeSGLとPgSGL3のリガンドフリー構造をそれぞれ2.40 Å、1.20 Åの分解能で得た。XcSGLと β -1,2-グルカンとの複合体構造は2.50 Åの分解能であった。XcSGLでは β -1,2-グルコ七糖 (Sop₇) が基質ポケットに明確に観察され (図 1A)、中央のグルコースユニットが歪んだコンフォメーションとなっていたことから、この部分が切断位置であることが明確に示された。また、EeSGL、PgSGL3、XcSGLの構造を比較したところ、この3者の構造における基質ポケット形状は類似しており、1つの触媒残基を含むSGLを規定する3つの残基 (図 1の赤字で示した残基) の

位置もよく保存されていた (図 1BC)。以上の解析から、EeSGLとPgSGL3はGH144と同じメカニズムで触媒反応を行うことが推察された。

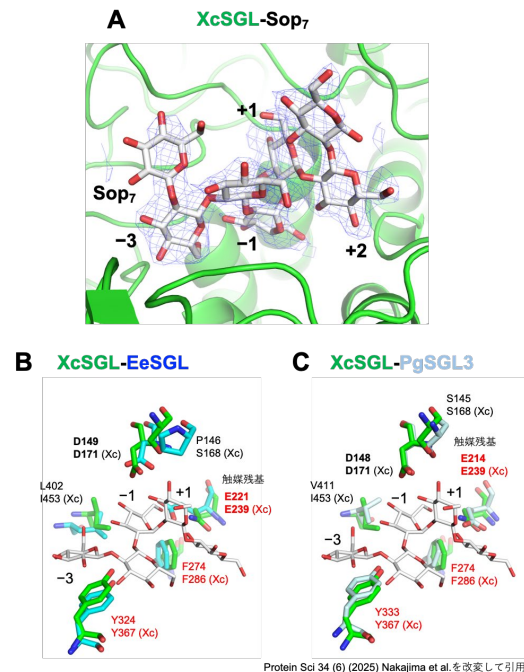


図 1: XcSGL、EeSGL、PgSGL3 の立体構造。

謝辞

本成果は多くの方々のご協力によるものです。ここに感謝致します。

参考文献

[1] K. Abe *et al.*, *J. Biol. Chem.* **292**, 7487-7506 (2017).

成果

1. 学術論文

New glycoside hydrolase families of β -1,2-glucanases
Masahiro Nakajima, Nobukiyo Tanaka, Sei Motouchi,
et al.

Protein Science, **34** (6) e70147, 2025

* m-nakajima@rs.tus.ac.jp