

担子菌の GH131 に属する機能未知タンパク質の結晶構造解析 Crystal structure of an uncharacterized GH131 protein from a basidiomycete

宮崎剛亜¹, 吉田誠¹, 田村瑞¹, 田中祐太郎¹, 梅澤究¹, 西河淳¹, 殿塚隆史^{1,*}

¹東京農工大学大学院農学府応用生命化学専攻, 〒183-8509 府中市幸町 3-5-8

²東京農工大学大学院農学府環境資源物質科学専攻, 〒183-8509 府中市幸町 3-5-8

Takatsugu Miyazaki¹, Makoto Yoshida², Mizuki Tamura¹, Yutaro Tanaka¹, Kiwamu Umezawa²,
Atsushi Nishikawa¹ and Takashi Tonozuka^{1,*}

¹Department of Applied Biological Science and ²Department of Environmental and Natural Resource Science, Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8 Saiwai-cho, Fuchu, 183-8509, Japan

1 はじめに

セルロースは、地球上で最も多く存在するバイオマスであり、効率的なセルロース分解技術の開発が囑望されている。我々のグループでは、担子菌の卓越した木質腐朽能に着目し、キノコ研究のモデル生物である、*Coprinopsis cinerea* のセルロース分解機構の研究を行っている。

C. cinerea のゲノム情報をもとに新規なバイオマス分解酵素の探索を行ったところ、CC1G_07166 という番号がついた遺伝子の産物がある候補であると判断された。2012年に糸状菌 *Podospira anserina* において β -1,3-、 β -1,4-、 β -1,6-グルカンに幅広く作用する酵素の存在が明らかになり、糖質加水分解酵素ファミリー131 (GH131) という分類が新たになされるに至った。CC1G_07166 は、この GH131 に分類されるため、我々は CcGH131A と命名して研究を行っている。

今回、CcGH131A の触媒ドメインと推定される領域についての立体構造を決定した[1]。これは、糖質加水分解酵素ファミリー (GH) 131 における世界で初めての立体構造の報告である。

2 実験

CcGH131A は 325 アミノ酸残基から成るが、今回は N 末端側の 1 から 252 番目から構成される領域を大腸菌で発現させ、結晶化を行った。位相の決定はセレノメチオニンを用いた単波長異常分散法によった。

3 結果および考察

CcGH131A の全体構造を図 1 に示した。構造は 2 枚の β シートからなる β -ゼリーロールで構成されていた。相同性を有する立体構造を Dali サーバーで検索したところ、多糖リアーゼファミリー (PL) 20 に属するエンド- β -1,4-グルクロナンリアーゼとの相同性が最も高く、PL13 のヘパリンリアーゼ、PL7 のアルギン酸リアーゼ、GH16 の β -1,3-/1,4-グルカナーゼと相同性が認められた。

相同性を有する酵素は、すべて β -ゼリーロールフォールドであり、これらは β -シートによって形成されるクレフトに活性中心が存在する。類似構造を有する他の糖質分解酵素と比較すると、活性中心と予想されるクレフトは浅いことが判明し、クレフトが浅いため、さまざまな基質が結合することができるものと考えられた。

CcGH131A と相同性が高く、反応機構の詳細が解明されているヘパリンリアーゼとの比較により、活性に重要なアミノ酸残基は、アルギニン残基 (Arg96)、グルタミン酸残基 (Glu98, Glu138)、ヒスチジン残基 (His218) の各であると示唆された。また、典型的な糖質加水分解酵素は、グルタミン酸残基あるいはアスパラギン酸残基のペアが触媒残基であるが、CcGH131A は、典型的な糖質加水分解酵素とは異なる反応機構を有する可能性が示唆された。

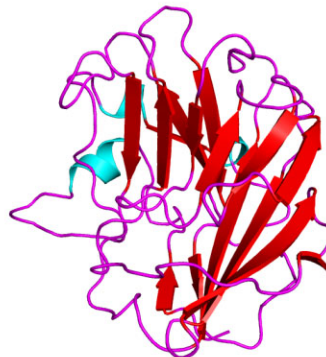


図 1 : CcGH131A の全体構造

4 まとめ

GH131 における世界で初めての報告として、CcGH131A の触媒ドメインと推定される領域の立体構造を決定した。今後、基質との複合体の立体構造解析などにより、触媒機構の解析が望まれる。

参考文献

[1] T. Miyazaki *et al.*, FEBS Lett. *in press* (2013).

* tonozuka@cc.tuat.ac.jp