

納豆菌ファージが生産するポリ- γ -グルタミン酸加水分解酵素の X線結晶構造解析

藤本 瑞¹, 志賀 勲², 伊藤 義文², 木村 啓太郎²

¹ (独) 農業生物資源研究所

² (独) 農研機構・食品総合研究所

納豆菌 (*Bacillus subtilis* (natto)) を宿主とするバクテリオファージ (Φ NIT1) は、納豆菌の生産するポリ- γ -グルタミン酸 (poly- γ -glutamate; PGA) を分解するための PGA 分解酵素 (PghP; 25kDa) を生産する。PGA はグルタミン酸が γ -カルボキシル基と α -アミノ基で結合した分子量約 200 万ダルトン (2MDa) にも及ぶポリペプチドで、納豆の糸の粘質物の主成分であり、納豆菌のほか炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) などいくつかの *Bacillus* 属細菌が生産することが知られている。PGA は莢膜と呼ばれる細胞保護構造の主成分であり、宿主の免疫機構から逃れるための重要な役割を担っている。PGA の組成は菌種によって異なるが、納豆菌の生産する PGA はほぼ同量の L 型と D 型のグルタミン酸を含んでいる。PGA を分解する酵素は納豆菌に少なくとも 2 つあることが分かっているが、PghP は L-グルタミン酸同士の間だけの特異的に切断すると考えられており、納豆菌の 2 つの PGA 分解酵素とは異なる分解作用を示す。また、PghP はアミノ酸配列で相同性のあるタンパク質がこれまで報告されておらず、新規性の高いタンパク質である。そこで、PghP の立体構造解析を行い PghP の基質分解機構の解明を行うことにした。

ポリエチレングリコールを沈殿剤とする結晶化条件で、球状結晶を得ることができ、高エネルギー加速器研究機構放射光施設で最高 1.8 Å 分解能のデータを取得した。セレノメチオニン誘導体タンパク質結晶を用いた単波長異常分散法により構造位相決定を行い、PghP の立体構造を得るに至った。PghP は逆平行 β シートを主体とする構造を有し、非対称単位中の 2 分子が、それぞれの β シートをつなげるように二量体を形成していた。その両端の位置にそれぞれの分子が一つずつ亜鉛イオンを配位しており、そこが触媒部位であると考えている。