

タンパク質結晶構造解析ユーザーグループ

担子菌由来菌体内 β -グルコシダーゼの結晶構造解析

二十軒悠里¹、塚田剛士²、五十嵐圭日子²、鮫島正浩²、若木高善¹、祥雲弘文¹、○伏信進矢¹

(¹東大・院農・応生工、²東大・院農・生材科)

β -グルコシダーゼ(BGL)は糖質加水分解酵素ファミリー GH1 および GH3 の主要なメンバーである。今日では、植物、真正細菌および古細菌由来の数多くの GH1 BGL の結晶構造が決定されているが、これまでに糸状菌由来の GH1 BGL の立体構造は報告されていなかった。白色木材腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* は植物細胞壁を効率よく分解でき、そのゲノム中には50以上のセルラーゼと予想される遺伝子(エンドグルカナーゼ、セロビオヒドロラーゼ、BGL など)が含まれている。本菌は菌体外のエンドグルカナーゼ、セロビオヒドロラーゼおよびセロビオース脱水素酵素の協同的な作用によりセルロースを分解すると考えられている。最近、2種類の菌体内 GH1 BGL(BGL1A, BGL1B)がクローニングされ、BGL1B はセロビオースおよびセロビオノラクトンに対する強い活性を示すものの、BGL1A はそれらの基質に対する活性は低いことが明らかになった。本研究では、BGL1A の立体構造を X 線結晶構造解析により決定し、その基質認識の構造的基盤を明らかにすることを目的とした。

BGL1A の基質フリーの構造を分解能 1.5Å で、グルコノラクトンとの複合体構造を 1.9Å でそれぞれ決定した(図)。BGL1A の全体構造とサブサイト-1(アグリコン結合部位)は他の GH1 酵素と良く似ていたが、(β/α)₈ バレルを覆うループ領域の構造は大きく異なっていた。これらのループ領域によって構成されるサブサイト+1(グリコン結合部位)は既知の GH1 酵素と異なるユニークなものであり、BGL1A の特異な基質認識機構が明らかになった。

続いて、BGL1A の立体構造をもとに BGL1B のモデル構造を構築し、両酵素のサブサイト+1を形成するアミノ酸残基を互いのタイプに置換した変異体を作成し、それらの反応速度パラメータを測定した。その結果、BGL1B と基質セロビオースとの相互作用に重要な残基が明らかになった。

