

## 酢酸菌 *Gluconobacter oxydans* 由来 2-ケト-D-グルコン酸還元酵素の X 線結晶構造解析

○窪田恵子<sup>1</sup>、宮園健一<sup>1</sup>、永田宏次<sup>1</sup>、岡井公彦<sup>1</sup>、Kang Hee-jin<sup>1</sup>、Ittipon Saichana<sup>2</sup>、外山博英<sup>3</sup>、松下一信<sup>2</sup>、田之倉優<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東大院農生科・応生化、<sup>2</sup>山口大農・生物機能、<sup>3</sup>琉球大農・生資科

酢酸菌は、糖やアルコールを他の微生物が利用し難い有機酸に変換し、それを栄養源とする能力を有する。これら酢酸菌が産生する有機酸は工業的に極めて有用であり、特に 2-ケト-D-グルコン酸(2KGA)は、ビタミン C や L-ソルビン酸の原料として使われる一方、トリアジノン、ベンズイミダゾール、スピロ化合物等の合成中間体としても注目を集めている。2-ケト-D-グルコン酸還元酵素(2KGR)は、NADPH 依存的に 2KGA を D-グルコン酸へ還元する酵素であり、2KGA の定量などにも広く利用されている。本研究では 2KGR の結晶構造解析を行い、基質認識機構を解明することを目的とした。

今回我々は、NADPH 存在下で *G. oxydans* 由来 2KGR の結晶化に成功した。KEK Photon Factory のビームライン BL-5A を利用し、2KGA をソーキングした結晶を用いて分解能 2.9 Å の X 線回折データを取得し、分子置換法により結晶構造を決定した。非対称単位中に 2 分子存在し、二量体を形成していた。2KGR は Rossmann fold からなる NADPH 結合ドメインと NC 両末端からなるドメインで構成されていた。NADPH は両ドメインの境界に位置し、2KGA の電子密度もその上部に確認できた。二量体のもう一方の分子には、NADPH と基質の結合は見られなかった。アポ型と NADPH-2KGA 結合型を比較したところ、NADPH-2KGA が結合することで両ドメイン間が狭くなる事が明らかとなった。

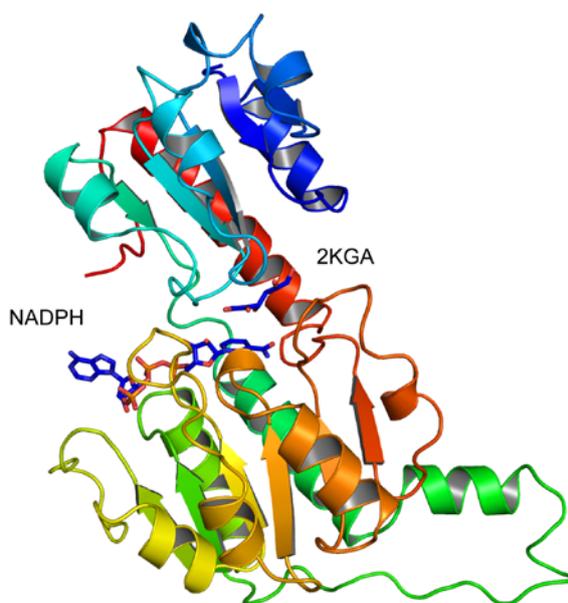


図 2KGR のプロトマー構造  
補酵素である 2 つのドメインの間に NADPH と基質である 2KGA が結合していた。