

放線菌 α -L-ラムノシダーゼの構造と機能

Characterization and crystallographic analysis of *Streptomyces avermitilis* α -L-rhamnosidase

藤本 瑞¹, 一ノ瀬 仁美², 門間 充¹, 金子 哲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

アラビノガラクトタンパク質 Arabinogalactan-proteins (AGP) は、高等植物の細胞表層に存在する植物プロテオグリカン的一种であり、ガラクトースやアラビノースに富んだ糖鎖と、ヒドロキシプロリンに富むコアタンパク質からなる分子の総称である。AGP はコアタンパク質、糖鎖がともにヘテロな分子であり分子の構造解析は困難である。我々は AGP 糖鎖に作用する糖質加水分解酵素が AGP 研究において重要だと考え研究を行ってきたが、これまでに放線菌 *Streptomyces avermitilis* が AGP 糖鎖の加水分解酵素群を有していることを明らかにし、複数の加水分解酵素の機能解析、および構造解析を行っている。この放線菌の α -L-rhamnosidase の大腸菌を用いた発現系を構築し、全モジュールを含む組換えタンパク質の作製に成功した。AGP の末端に α 結合で結合して存在する L-ラムノースを切り出す活性が確認された。放線菌 α -L-ラムノシダーゼは全長 1031 アミノ酸、分子量約 11 万 Da のタンパク質であり、その中には糖質分解酵素ファミリー 78 触媒モジュール (GH78) のほか、いくつかのドメインが含まれていると考えられた。複合糖鎖に作用するための多ドメイン構造を持っていると考えられるので、本酵素の触媒反応機構および複合糖鎖への反応効率化機構解明のための基盤構築のため立体構造解析に着手した。

構造解析は、Se-Met 誘導体結晶を用いた単波長異常散乱法 (SAD) 法を用いて行った。Se-Met 誘導体結晶 Se 原子吸収端における異常分散項を含むデータ測定は PFBL5A において、また、L-ラムノース複合体結晶のデータ測定は PF-AR BLNW12A において行い、それぞれ 2.0、1.9 Å 分解能のデータを取得した。位相決定はプログラム solve、モデル構築は resolve と arp/warp を併用した。

放線菌 α -L-ラムノシダーゼの触媒ドメインは $(\alpha/\alpha)_6$ -バレル構造であり、その N 末側に 4 つ、C 末側に 1 つの主として β -シート構造からなるドメインが存在していた。L-ラムノース複合体構造では、分子中に 4 分子の結合した L-ラムノースが見いだされた。そのうち一つは、触媒部位に存在した。また、もう一つは触媒部位と向かい合う 2 番目のドメイン上に存在し、このドメインが基質結合ドメインであることが示唆された。