

担子菌 *Coprinopsis cinerea* 由来の
2種類のセロビオヒドロラーゼの構造解析
Structures of two cellobiohydrolases from a
basidiomycete, *Coprinopsis cinerea*

田中祐太郎¹、田村瑞¹、宮崎剛亜¹、吉田誠²、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、

2 東京農工大学大学院農学府環境資源物質科学専攻

私達のグループでは、担子菌類の卓越した木質腐朽能に着目し、キノコ研究のモデル菌である担子菌 *Coprinopsis cinerea* のセルロース分解機構の構造と機能の研究を行っている。糖質加水分解酵素ファミリー(GH)6に分類されるセルラーゼは、セルロースの分解に重要な役割を果たす酵素であり、*C. cinerea* は GH6 のセルラーゼを多数有することが判明している。GH6 のセルラーゼは、その性質により、エンドグルカナーゼとセロビオヒドロラーゼの2種類に大別される。今回、*C. cinerea* の GH6 に属する2種類のセロビオヒドロラーゼである CcCel6A および CcCel6C についての構造解析を行った。

GH6 のセロビオヒドロラーゼは、基質結合部位がトンネル型の構造をしており、トンネルを構成するループの構造が、基質結合とともに変化することが報告されている。今回、野生型酵素の解析とともに、活性中心のトンネル構造の制御に最も重要なアミノ酸残基に変異を導入した酵素、CcCel6A D164A および CcCel6C D102A を構築し、X線結晶構造解析により構造を決定した。

CcCel6A および CcCel6C の野生型および変異酵素は、His-tag と融合させたタンパク質として大腸菌で発現させ、Ni-NTA カラムを用いて精製、結晶化し、X線回折データを収集した。位相決定は、糸状菌の GH6 セロビオヒドロラーゼの構造(PDB 番号 1BVW)を用いた分子置換法によった。

CcCel6A 野生型および D164A の構造、および、CcCel6C 野生型および D102A の構造を重ねることにより比較した。CcCel6A の構造変化は基質結合部位のトンネル周辺にしか見られなかった。これに対し、CcCel6C は分子全体に大きな構造変化が見られることが判明した。これまでに糸状菌由来の GH6 に属するセロビオヒドロラーゼの立体構造が報告されているが、これらの酵素の基質結合に伴う構造変化は CcCel6A と同様、基質結合部位のトンネル周辺にしか見られず、CcCel6C は、分子全体に大きな構造変化が見られる特徴的な酵素であることが判明した。