

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 14 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	<i>Clostridium cellulovorans</i> が生産するセルロソームの構造と機能に関する研究	
研究代表者	氏名	三宅 英雄
	所属機関名・部局名	三重大学・大学院生物資源学研究科
	職名	准教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
	<input type="radio"/>	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	栗栖源嗣 教授	
<p>嫌気性細菌である <i>Clostridium cellulovorans</i> は、酵素複合体である“セルロソーム”を生産する。分子生物学、生化学等の技術を駆使した近年の解析により、セルロソームは骨格タンパク質をベースに多数の糖質関連酵素が結合した構造を取り、これらの複数の酵素が共役してセルロースやヘミセルロースに作用することで、非常に高い多糖の分解活性を示すことが明らかになった。注目すべき点は、他の <i>Clostridium</i> 属のセルロソームは、セルロソームを構成するのに必要な骨格タンパク質を 1 つしか持たないが、<i>C. cellulovorans</i> は大小異なる 4 種類の骨格タンパク質 (HbpA, CbpA, CbpB, CbpC) を持つため、4 種類のセルロソームを発現することが予想された。これまで CbpC とセルロソーム関連酵素であるキシラナーゼ B (XynB) が相互作用することで最小のセルロソームを形成することを証明した。本研究期間では、セルロソーム関連酵素である XynB と骨格タンパク質である CbpC の X 線結晶構造解析とセルロソーム関連酵素の一つであり GH44 ファミリーに属するエンドグルカナーゼ 44A (Eng44A) の酵素学的諸性質を調べ、結晶化を行うことを目的とした。</p> <p>結晶構造解析に関して、XynB は、分子置換法として <i>Balbes</i>、精密化に <i>Refmac</i> を用いて行ったところ、R_{factor} が 0.366、R_{free} が 0.398 となり、位相の決定まで行うことができた。CbpC と Eng44A に関しては良質な結晶を得ることはできなかった。</p> <p>Eng44A の酵素学的諸性質について調べた。CMC、キシログルカン、キシラン、グルコマンナンを基質とした時の Eng44A の速度論的解析を行った。CMC やキシログルカンでの k_{cat}/K_m が高いことから Eng44A はキシログルカナーゼ/エンドグルカナーゼであることが明らかとなった。またキシログルカンや CMC ではこれまで報告されている GH44 酵素と比べて最も高い k_{cat}/K_m の値を示した。これらの結果から、Eng44A は <i>C. cellulovorans</i> のバイオマス分解においてキシログルカンなどのセルロースの周りにあるヘミセルロースを分解することで、結晶性セルロースを露出させ、ヘミセルロースを分解できないセルラーゼがセルロース鎖を分解することを助けることができると考えられた。また非結晶性セルロースが露出した部分を分解し、比較的小さなオリゴ糖であるセロトリオース、セロテトラオースを生成することでバイオマス分解に寄与する可能性があると考えられた。</p>		

