

省エネルギーリニアモーターの運動性を決める

構造的要素の解明

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター
中村 彰彦

要旨

カビや細菌が生産するセルロース加水分解酵素(セルラーゼ)は植物などのバイオマス資源の変換において注目されている酵素である。特にセロビオヒドロラーゼと呼ばれるセルラーゼは、強固にパッキングしている結晶領域も効率的に分解が可能である。その理由の一つとして、結晶性セルロースの表面を運動しながら連続的に加水分解する「プロセッシブ反応」が上げられる。またセロビオヒドロラーゼは触媒ドメインと吸着ドメインがリンカー領域で繋がった構造をしている事が多く、リンカー領域と吸着ドメインを取り除くと結晶性セルロースの分解効率が大きく低下する事が知られている。そこでカビの一種 *Trichoderma reesei* 由来 *TrCel16A* の全長及び各ドメインの性質を解析し、セロビオヒドロラーゼの運動性を決めている構造的要素の解析を行った。その結果、リンカー領域がセルロースへの結合に重要であり、また吸着ドメインはセルロースの分解可能な結合面への結合特異性に重要である事が分かった。また全長ではプロセッシブ運動と表面拡散運動が観測されたのに対し、触媒ドメインのみでは拡散運動しか観測できなかった。即ちリンカー領域及び結合ドメインがプロセッシブ運動を行う為に必要、又はプロセッシブ運動の距離を長くする役割が有ると考えられた。リンカー領域及び結合ドメインのプロセッシブ反応への寄与はこの研究で初めて明らかになった。この結果を基に、今後新たな酵素の設計を行う予定である。

1. 研究目的と成果

地球上で最も豊富に存在している再生可能な資源は木や草などの植物である。それらはバイオマス資源と総称され、液体燃料や化成品への変換が試みられている。植物体の半分以上はセルロースであり、単糖にまで分解する事でグルコースを得る事ができる。しかしセルロースは分子鎖同士が強固にパッキングした結晶構造を取り、物理的にも科学的にも安定である為に温和な条件での分解が難しいことが問題となっている。一方天然ではカビやキノコ、細菌などの微生物がセルロース加水分解酵素(セルラーゼ)を生産する事で、セルロースを栄養源として生育している。特にセロビオヒドロラーゼと呼ばれているセルラーゼは結晶性セルロースの分解活性が高い事が知られている。セロビオヒドロラーゼの多くは加水分解反応を行う触媒ドメイン(Catalytic domain: CD)とセルロースへの吸着を行う吸着ドメイン(Cellulose binding module: CBM)がリンカー領域(Linker region: Linker)で繋がった構造をしている。CDは活性中心がループで覆われており、トンネル状の構造をしている。この構造によりセルロース分子鎖から離れる事無く連続的に分解をする「プロセッシブ反応」を行うと考えられている。またCDのみでは結晶性セルロースの分

解活性が著しく低下する事から、Linker 及び CBM は結晶性セルロースの分解に重要であると言われている。Linker 及び CBM はセルロースへの吸着を助け、表面での酵素濃度を上昇させる働きが有ると言われているがプロセッシブ反応に寄与しているかどうかは不明である。そこでカビの一種 *Trichoderma reesei* 由来 *TrCel16A* を例として、全長(Intact)及び各ドメインの性質を分割して一分子蛍光イメージングによりその性質を解析した。

まずセルロースへの吸着速度(k_{on})について、CDのみではIntactの7%となりCBMとLinkerが吸着に重要である事が確認できた。またCBM+LinkerではIntactの52%の吸着速度を保持していたのに対し、CBMだけではIntactの7%の吸着速度であることが分かった。即ちセルロースへの吸着においてLinker領域が重要であることが初めて明らかとなった。脱着速度(k_{off})は全ての酵素において強い結合と弱い結合が有ることが明らかとなった。解離定数($K_d = k_{off}/k_{on}$)を計算するとCDでは2種の結合の差が3.6と小さかった。しかしCBMでは強い結合のアフィニティが12倍高く、分解可能なセルロースの疎水面に特性が高いと考えられる。またIntactでは遅いプロセッシブ運動と速い表面拡散運動が観測されたが、CDのみでは速い拡散運動のみしか観測されなかった。即ちCBM+Linkerはプロセッシブ運動を補助する役割も有ることが明らかとなった。

加えてバクテリア *Cellulomonas fimi* 由来 *CfCel16B* のCDの結晶構造を1.6 Åで解析した。その結果 *TrCel16A* よりもトンネル構造が長い事が明らかとなった。そこで *CfCel16B* についても同様の解析を行い *TrCel16A* との比較を行っている。

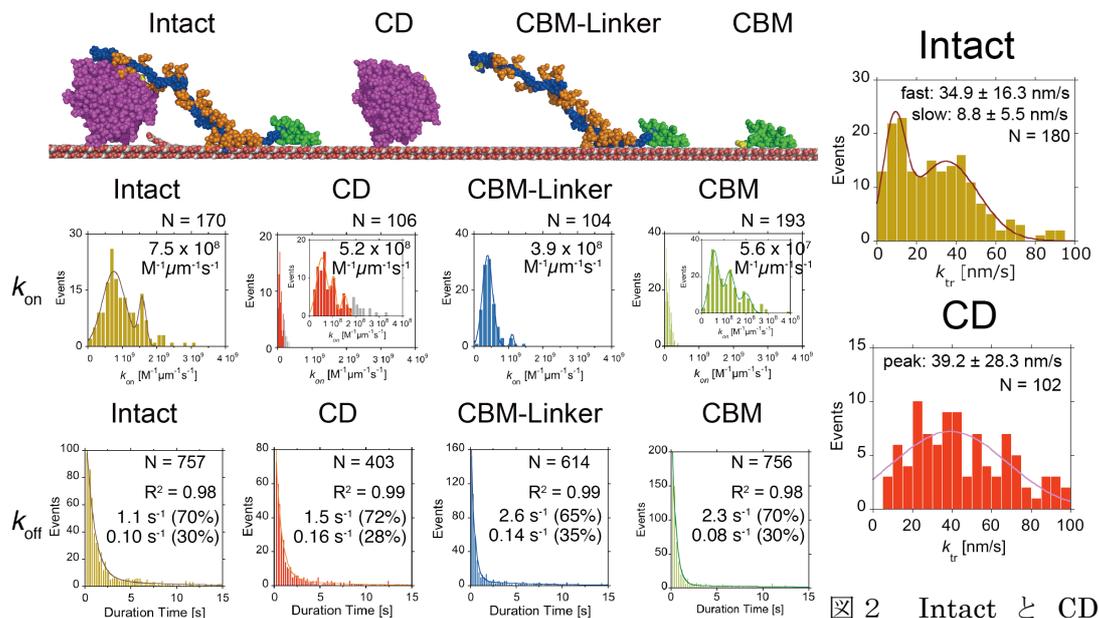


図1 *TrCel16A* の各ドメインの吸脱着速度

図2 Intact と CD の運動速度比較

2. まとめと今後の課題

本研究によりプロセッシブ運動へのリンカー領域及び吸着ドメインの寄与が初めて明らかとなった。また *CfCel16B* の触媒ドメインの X 線結晶構造を明らかにし、*TrCel16A* の触媒ドメインよりも活性中心を覆うトンネル状の構造が長い事をしめした。今後はドメインの構造の異なっている *TrCel16A* と *CfCel16B* の性質を比較し、より効率的な酵素の設計を行う。