

トレハロース合成に関わる高度好熱菌由来グリコシルトランスフェラーゼの立体構造解析

The structural study of glycosyltransferase from *Sulfolobus shibatae* DSM5389

岡崎伸生¹, 玉田太郎¹, 加藤優², 三浦裕², 黒木良太¹

Nobuo Okazaki¹, Taro Tamada¹, Masaru Kato², Hiroshi Miura², Ryota Kuroki¹

(¹原子力機構, ²キリンホールディングス(株))

(¹Japan Atomic Energy Agency (JAEA), ²Kirin holdings Co., Ltd.)

e-mail: okazaki.nobuo@jaea.go.jp

トレハロース(trehalose; *O*- α -glucopyranosyl-(1 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside)は2つのグルコースが α, α -1,1グリコシド結合した非還元性の二糖類である。様々な生化学機能に関与しており、タンパク質や細胞膜を環境変化などから保護するなどの多様な性質を持つ。工業生産されており、化粧品や医薬品、食品添加物として使用される。酸性、高温下で生息する始原菌には、可溶性デンプンから直接トレハロースを生成するシステムが存在する(Fig.1)。このシステムには2つの酵素が働いており、一つは本研究テーマである α -アミラーゼファミリーに属するグリコシルトランスフェラーゼ(glycosyltransferase; GTSase; EC.2.4.1.25)が、マルトオリゴ糖の末端2糖の分子内転移を行い、基質還元末端部位の α -1,4グリコシド結合を α, α -1,1結合に変換する。生成物であるグリコシルトレハロースは α -アミラーゼ(α -1,4-D-glucanohydrolase, EC.3.2.1.1, endoamylase)により加水分解され、最終生成物であるトレハロースが切り出される。我々は始原菌 *Sulfolobus shibatae* DSM5389 由来の GTSase の結晶化を行い、SPRING-8 BL41XU で測定したデータを用いてその立体構造を明らかにした。

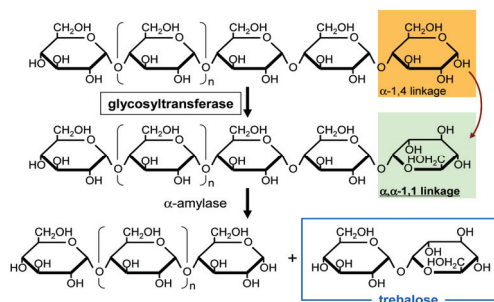


Fig.1 トレハロースの生成経路

GTSase は大まかに3つのドメインに分かれており(Fig.2)、 α -アミラーゼファミリーに広く見られる(β/α)₈ バレル触媒ドメインを含んでいる。その触媒中心には、一つのグルタミン酸(Glu269)、および二つのアスパラギン酸(Asp241 および Asp460)が見られ、これらの立体配置は α -アミラーゼ

と同様に保存されていることから活性中心および触媒機構も類似していると考えられる。

これらの事より推測された触媒活性中心には Ca^{2+} イオンまたは Mg^{2+} イオンと見られる電子密度を中心とし、水分子を含んだ水素結合ネットワークが形成されていた。これらの構造を他の GTSase ならびに α -amylase と比較検討を行い得られた知見を報告する。

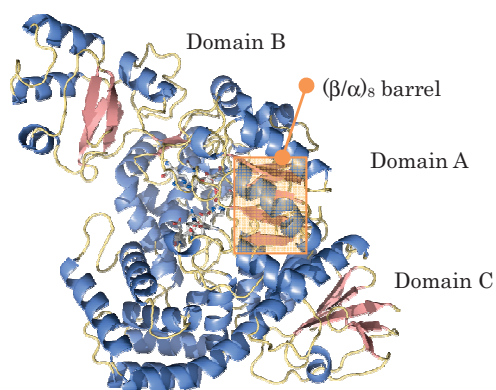


Fig.2 GTSase の全体構造