

酢酸セルロース分解酵素の構造・機能解析

SATテクノロジー・ショーケース2022

■ はじめに

持続可能な物質循環を実現するために、プラスチックの生分解は重要なトピックである。セルロースをアセチル化して合成される酢酸セルロースは、フィルターや逆浸透膜に利用される生分解性プラスチックである。酢酸セルロースは水酸基のアセチル化に伴い熱可塑性を増すが、一方で分解が阻害される。したがって、酢酸セルロースの脱アセチル化反応は、生分解を促進するために重要な反応である(図A)。

アセチルキシラン脱アセチル化酵素の一種である好熱菌由来TTE0866は、他の酵素では困難な基質である、高アセチル基置換度の酢酸セルロースを脱アセチル化できるため、酢酸セルロース分解酵素として応用が期待される。TTE0866はN末端側に役割不明の機能未知領域(113アミノ酸)と、C末端側に触媒領域(189アミノ酸)を有する。本研究では、TTE0866の結晶構造を決定し、類似酵素との構造比較を通じて高アセチル基置換度の酢酸セルロースに反応する要因を考察した。さらに、欠失変異解析により、機能未知領域の役割を考察した。

■ 活動内容

1. TTE0866のX線結晶構造解析

TTE0866の結晶構造を分解能1.9 Åで決定した。構造精密化の結果、触媒領域の(β/α)₇バレル構造が明らかとなった(図B)。しかし、機能未知領域の電子密度は観察されなかった。活性中心は類似酵素間で保存される5つの触媒モチーフから構成され、一般触媒酸・塩基残基、金属結合残基およびニッケルイオンを有していた(図C)。TTE0866と類似酵素の活性中心構造を比較すると、触媒残基や金属結合残基の位置および配向は一致した。しかし、活性中心近傍の基質認識に寄与する芳香族アミノ酸残基の配向は明確に異なった(図C)。また、芳香族アミノ酸残基の特異な配向により、基質結合ポケットの形状が変化した。これらの違いは、TTE0866の特異な反応性に関連すると考えられる。

2. 機能未知領域の欠失変異解析

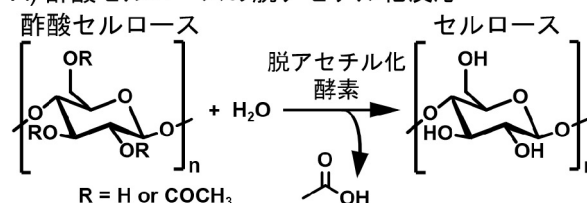
機能未知領域を段階的に欠失させた変異体を調製し、その役割を調べた。円偏光二色性スペクトル測定の結果、機能未知領域の段階的な欠失は二次構造にほとんど影響しなかった。一方で、完全に欠失させた変異体は低塩濃度条件下において溶解度が低下した(図D)。これらの

結果から、機能未知領域は二次構造の形成に関与せず、低塩濃度条件下での溶解度維持に必須な領域と考えられる。

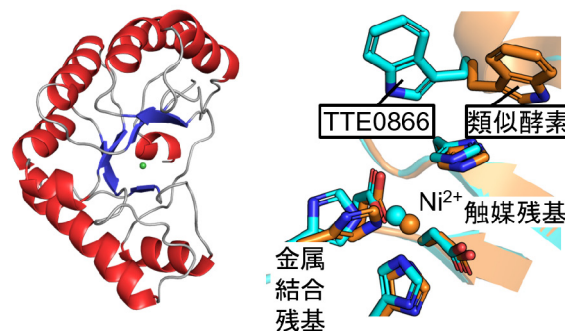
■ 関連情報等(特許関係、施設)

X線回折実験はSPRING-8のBL44XUで実施した。活動内容1は、下記の論文にて公開された。Crystal structure of acetylxylnan esterase from *Caldanaerobacter subterraneus* subsp. *tengcongensis*, K. Sasamoto, T. Himiyama, K. Moriyoshi, T. Ohmoto, K. Uegaki, Y. Nishiyama, and T. Nakamura, *Acta Cryst. F*, 2021, **77**.

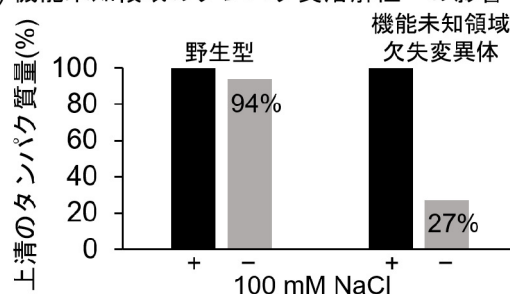
A) 酢酸セルロースの脱アセチル化反応



B) TTE0866の結晶構造 C) 活性中心構造の比較



D) 機能未知領域のタンパク質溶解性への影響



代表発表者 佐々本 康平(ささもと こうへい)
 所属 摂南大学大学院 理工学研究科 生命科学専攻
 産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門
 生体分子創製研究グループ
 問合せ先 〒572-8508 大阪府寝屋川市池田中町 17 番 8 号
 1 号館 9 階 特殊環境微生物学研究室
 TEL:072-800-1151 FAX:072-838-6599
 20d901sk@edu.setsunan.ac.jp

■キーワード: (1) 酵素
 (2) 結晶構造解析
 (3) 生分解性プラスチック

■共同研究者: 下澤 勇弥^{1,2}、氷見山 幹基²、森芳 邦彦³、大本 貴士³、上垣 浩一⁴、西矢 芳昭¹、中村 努²

1. 摂南大院、2. 産総研、3. 大阪産技研、4. 近畿大