

中性子構造解析で可視化するタンパク質本来の姿 —多重互変異がセルラーゼの活性に与える影響— The original form of protein visualized by neutron structural analysis -Effects of multiple tautomerization on the activity of cellulase-

五十嵐 圭日子^{1,2}

1 東京大学大学院農学生命科学研究科

2 VTT フィンランド技術研究センター

植物細胞壁の主成分はグルコースのポリマーであるセルロースで、天然で最も豊富に存在するバイオマスである。セルロースは化学的に極めて安定であることから、セルロースを加水分解してグルコースを得るには多くのエネルギーが必要であり、未利用バイオマスの代表格として知られている。その一方で自然界においてセルロースは、微生物が出す「セルラーゼ」という一連の酵素群によって分解され、栄養源として利用されている。すなわち、セルラーゼを使いこなすことができれば、セルロース系バイオマスからバイオエタノールやバイオプラスチックを生産するバイオリファイナリー技術の実用化に一步近づく。

近年、我々はきのこの一種である *Phanerochaete chrysosporium* が生産する新規セルラーゼ遺伝子をクローニングした。本酵素 (*PcCel45A*) は、糖質加水分解酵素ファミリー (glycoside hydrolase; GH) ファミリー45 に属するエンドグルカナーゼで、カビから取られた本酵素ファミリーに属する酵素は洗剤に用いられる酵素としても一般的に知られている。しかしながら、本ファミリーの別の酵素と *PcCel45A* のアミノ酸配列を比較すると、加水分解反応を行うために重要なアミノ酸が *PcCel45A* では見当たらないことが分かった。すなわち、*PcCel45A* は「活性中心がないのに活性がある」という不思議な酵素なのである。

そこで我々は、本酵素が活性を持つ仕組みを明らかにするために、*PcCel45A* の巨大結晶 (6 mm³) の作成し、中性子/X線共構造解析に供した。その結果、本酵素が「イミド酸型」のアスパラギン (図右) を活性残基として用いる珍しい酵素であることが判明した¹。さらに不安定なイミド酸構造がどのように安定化されているかを調べたところ、周辺の複数のアミノ酸においてペプチド主鎖がイミド酸へ互変異し、最終的には様々なアミノ酸の側鎖と水素結合ネットワークを形成していることが明らかとなった。互変異は原子間距離の違いを生じさせてしまうこと、一般に使われている構造解析ソフトの多くでこのような多重互変異は想定されていないことを考えると、他の酵素の場合も活性中心付近の「揺らぎ」がこの多重互変異で説明できるのではないかと演者は考えている。また、創薬などに使われる分子動力学シミュレーションにおいてこの多重互変異が考慮されていないことを考えると、タンパク質をこれまで以上にダイナミ

ックな分子として認識することが重要であると考
えている。

1. Nakamura, Ishida *et al.*, *Science Adv.* (2015)

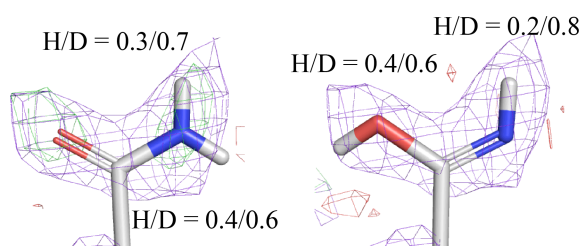


図 *PcCel45A* のアスパラギン残基。(左)アミノ型、
(右)イミド酸型