

クレン古細菌 *Sulfolobus* 由来の二種のトレハロース分解酵素は、異なる比活性や親和性を示す

湯浅 充洋 大学院 博士前期課程、 / 坂口 政吉 先進工学部 生命化学科 准教授

キーワード: 古細菌GH15トレハラーゼ, 発現, 特性解析, トレハロース代謝

概要

トレハラーゼは、非還元性の二糖であるトレハロースを加水分解する酵素で、糖質加水分解酵素 (GH) ファミリーで、GH15、GH37、GH65で報告されている。GH15ファミリー酵素でユーリ古細菌 *Thermoplasma* 属から同定された酵素 (TVN1315) に類似している配列をクレン古細菌 *Sulfolobus* 属の染色体 DNA 上から二種見出した (*Saci1250*, *Saci1816*)。この二種の遺伝子をクローニングし、大腸菌を用いて遺伝子産物を発現・取得した結果、トレハロースに対し特異的な分解活性を示した (SaTreH1, SaTreH2)。これらの酵素の酵素化学的性質を調べた結果、SaTreH1は、至適pHが4.0、至適温度60、SaTreH2は、至適pHが3.7、至適温度70であり、好酸性好熱性酵素であることが示された (図1)。また、トレハロースに対する速度論パラメータを調べたところ、SaTreH1は、既知のGH15酵素の値と同様の値を示したが、SaTreH2は比較的低い k_{cat} 値と K_M 値を示した (表1)。さらに、変異導入酵素を作製して、推定触媒残基およびその周辺のアミノ酸の違いを調査した結果、クレン古細菌トレハラーゼの活性部位構造は、ユーリ古細菌トレハラーゼのそれと類似しているが、異なる点を有することが示唆された。

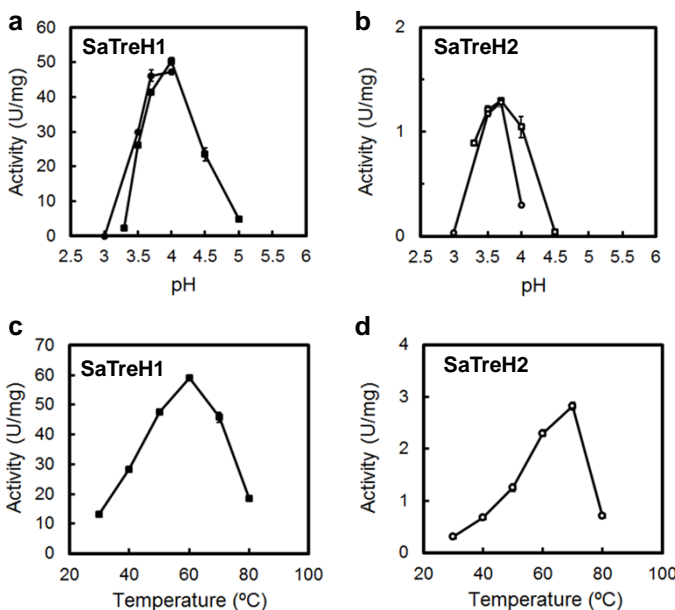


図1 酵素化学的性質
aとbはpH依存性, cとdは温度依存性

表1 速度論パラメータの比較

Organism (enzyme name)	GH family	k_{cat} (s^{-1})	K_M (mM)	k_{cat}/K_M ($s^{-1} mM^{-1}$)	Temperature, pH
<i>S. acidocaldarius</i> (SaTreH1)	15	77.0	41.8	1.84	50, 4.0
<i>S. acidocaldarius</i> (SaTreH1)	15	102.5	54.5	1.88	60, 4.0
<i>S. acidocaldarius</i> (SaTreH2)	15	1.60	2.39	0.67	50, 3.7
<i>S. acidocaldarius</i> (SaTreH2)	15	3.43	3.47	0.99	70, 3.7
<i>T. volcanium</i> (TVN1315)	15	63.0	48.7	1.29	50, 3.7
<i>T. acidophilum</i> (Ta0286)	15	66.7	40.2	1.66	50, 3.7
<i>M. smegmatis</i>	15	ND ^a	20.0	ND ^a	37, 7.1
<i>E. coli</i> (cytoplasmic)	37	57.6 ^b	1.9	30.3	30, 5.5
<i>E. coli</i> (periplasmic)	37	84.1 ^b	0.8	105	30, 5.5
<i>S. cerevisiae</i> (acidic)	65	67.7 ^b	4.7	14.4 ^b	37, 4.5
<i>S. cerevisiae</i> (neutral)	37	148 ^b	34.5	4.29	37, 7.0

アピールポイント

クレン古細菌 *Sulfolobus* 由来の二種の遺伝子産物をGH15ファミリートレハラーゼとして同定し、これら二種の酵素がトレハロースに対して異なる比活性と親和性を示すことを見出した。

利用・用途 応用分野

GH15酵素と他のファミリー酵素の構造と機能の間の関連性に対する理解を拡大し、さらに古細菌のトレハロース代謝の解明に貢献が期待できる。

関連情報

関連論文 Yuasa, M., Okamura, T., Kimura, M., Honda, S., Shin, Y., Kawakita, M., Oyama, F. and Sakaguchi, M. (2018) Two trehalose-hydrolyzing enzymes from *Crenarchaeon Sulfolobus acidocaldarius* exhibit distinct activities and affinities toward trehalose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102:4445-4455

関連 URL <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8915-7>