

# 古細菌GH15トレハラーゼは狭い酸性領域で働く

坂口 政吉 先進工学部 生命化学科 講師

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

糖質加水分解酵素 (GH)15ファミリーには、オリゴ糖やデンプンを非還元末端から加水分解し、グルコースを遊離する酵素が分類されている。温泉などで生育する古細菌 *Thermoplasma* 属の染色体DNA上にも GH15ファミリー酵素とよく似た配列が存在する。二種の古細菌から関連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・取得することを試みた。遺伝子産物を精製し、それらの特性を調べた結果、古細菌由来の二種の酵素 (TVN1315, Ta0286) は、非還元性二糖であるトレハロースを特異的に分解する酵素であることがわかった。また、これら酵素は、酸性側の狭い範囲 (pH 3.0-4.0)、高温 (50-60 °C) でその分解活性を示すことがわかった (図1)。しかし、これら酵素のトレハロースに対する $K_m$ 値は、既知のトレハラーゼと比較して10-20倍の値を示した (表1)。同様に、トレハラーゼ阻害剤であるバリダマイシンA (VMA)を用いた阻害実験では、VMAは競争阻害形式で阻害するが、阻害定数が20-40  $\mu\text{M}$ と、既報の値より高い値を示した (図2)。これらのことから、GH15トレハラーゼの活性部位は、既知トレハラーゼと部分的に似ているものの異なる基質認識残基を保持していることが示唆された。

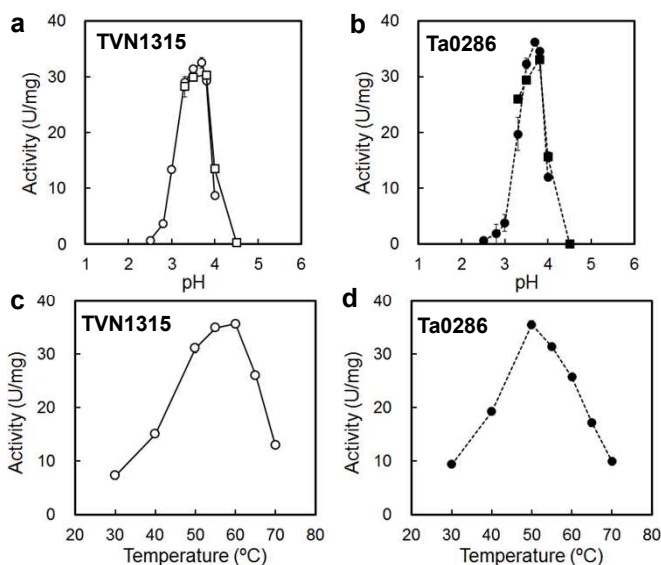


図1 酵素化学的性質  
aとbはpH依存性, cとdは温度依存性

表1 速度論パラメータの比較

Organism	GH family	$k_{cat}$ ( $s^{-1}$ )	$K_m$ (mM)	$k_{cat}/K_m$ ( $s^{-1} \text{mM}^{-1}$ )	Temp ( $^{\circ}\text{C}$ ), pH
<i>T. volcanium</i>	15	63.0	48.7	1.29	50, 3.7
<i>T. acidophilum</i>	15	66.7	40.2	1.66	50, 3.7
<i>M. smegmatis</i>	15	ND <sup>b</sup>	20.0	ND <sup>b</sup>	37, 7.1
<i>E. coli</i> (cytoplasmic)	37	57.6 <sup>c</sup>	1.9	30.3	30, 5.5
<i>E. coli</i> (periplasmic)	37	84.1 <sup>c</sup>	0.8	105	30, 5.5
<i>S. cerevisiae</i> (acidic)	65	67.7 <sup>c</sup>	4.7	14.4	37, 4.5
<i>S. cerevisiae</i> (neutral)	37	148 <sup>c</sup>	34.5	4.29	37, 7.0

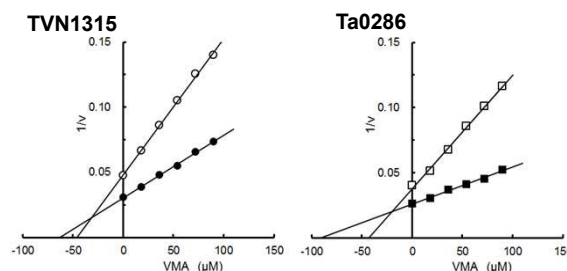


図2 Dixonプロット  
基質濃度 (○, □: 36 mM; ●, ■: 90 mM)

アピールポイント

古細菌で初めてのトレハラーゼの報告であり、GH15ファミリートレハラーゼの組換え酵素取得も初である。

利用・用途  
応用分野

GH15酵素の基質特異性に関する知見が期待され、古細菌のトレハロース代謝の解明への貢献が期待出来る

関連情報

● 関連論文 Sakaguchi, M., Shimodaira, S., Ishida, S., Amemiya, M., Honda, S., Sugahara, Y., Oyama, F. and Kawakita, M. (2015) Identification of GH15 family thermophilic archaeal trehalases that function within a narrow acidic-pH range. *Applied Environmental Microbiology*, 81:4920-4931.

● 関連 URL <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00956-15>