

[成果情報名] 還元末端から単糖を遊離するエキソ型キシラナーゼの発見

[要 約] *Bacillus halodurans* 由来 BH2105 遺伝子を大腸菌に発現させて酵素を精製した。本酵素はキシロオリゴ糖の還元末端から単糖を遊離するエキソ型酵素であり、REX (Reducing-end-xylose releasing exo-oligoxyylanase)と命名した。糖質の還元末端から単糖を遊離するエキソ型酵素は世界初の発見である。

[部 署] 食品総合研究所・生物機能開発部・酵素機能研究室

[連絡先] 酵素機能研究室 029-838-8071 mkitaoka@nfri.affrc.go.jp

[成果区分] 参考

[キーワード] キシラナーゼ、エキソ型酵素、REX

[背景・ねらい]

近年多くの微生物のゲノム配列が明らかになるにつれ、既存の酵素と中程度のホモロジーを示すタンパクをコードする遺伝子が見つかっている。我々はその中で好アルカリ性細菌である *Bacillus halodurans* のゲノムに見いだされ、セルラーゼ、キトサナーゼ、キシラナーゼ等が含まれる糖加水分解酵素ファミリー 8 (GH8)に属するが、キシラナーゼと30%程度のホモロジーを示すのみでその活性は明らかではないタンパクをコードする遺伝子に着目しその遺伝子産物の機能ならびに性質を調べた。

[成果の内容・特徴]

1. *B. halodurans* 由来 BH2105 遺伝子を大腸菌に発現させて遺伝子産物を調製した。精製された酵素は元々のN末端を保っており、菌体内酵素である。
2. 本酵素を同ファミリー内にある酵素が分解する基質であるキチン、キトサン、CM-セルロース、キシランに対する活性は無かった。本酵素は重合度3以上のキシロオリゴ糖を初期に重合度の一つ少ないキシロオリゴ糖とキシロースに分解し、最終的にキシロピオースとキシロースまで分解した。本酵素は還元末端をメチル化したキシロオリゴ糖にはほとんど作用しなかった。
3. 本酵素をグルコ・キシロヘテロ三糖に作用させてその活性を調べたところ、還元末端の単糖を遊離させていた(表1)。本酵素は還元末端のアノマーを選択的に認識しており、その反応はアノマー反転型であった(図1)。本酵素を REX(Reducing-end-xylose releasing exo-oligoxyylanase)と命名した。
4. *B. halodurans* では、他の通常細菌と異なり多くのヘミセルロース分解酵素が菌体内に分布していた。REX は、*B. halodurans* がアルカリ性環境下で生育するために最小限の分泌酵素をアルカリ型に進化させ残りの酵素を中性型のまま菌体内に残す進化戦略上必要であると考えられた(図2)。

[成果の活用面・留意点]

本酵素は現在までに報告されていない活性を示すために具体的な用途に関しては検討の余地が多い。本酵素の発見は、極限微生物における酵素系の進化の戦略を考察する上で重要な知見を与える。即ち、細胞内外の環境が極端に異なる極限微生物においては菌体外のみならず菌体内にもユニークな酵素活性を持つ可能性を示唆するものであり、今後の新規酵素のスクリーニングを行う上で考慮すべき点である。

[具体的データ]

表 1 . グルコキシロヘテロオリゴ糖に対する R E X の切断活性

基質	生成物	活性(s ⁻¹)
X-X-X	X-X + X	84
X-X-Xde	X-X + Xde	2.7
G-X-X	G-X + X	0.94
X-X-G	X-X + G	0.42
G-X-G	G-X + G	0.003
X-G-G	-	
G-G-X	-	
X-G-X	-	
G-G-G	-	

- , 活性無し

X, キシロース ; G, グルコース

Xde, 1-デオキシキシロース

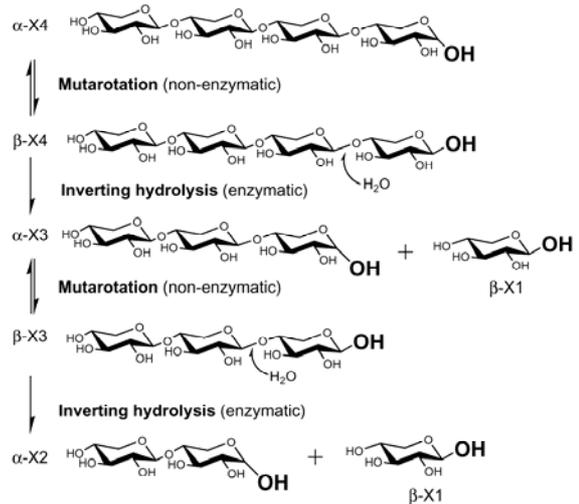


図 1 . REX のキシロオリゴ糖切断メカニズム

アノマーのみ認識し還元末端からキシロースを遊離するとともに一つ重合度の小さいキシロオリゴ糖を生成する。生成したキシロオリゴ糖は非酵素的にアノマーに変換された後さらに REX にて切断される。

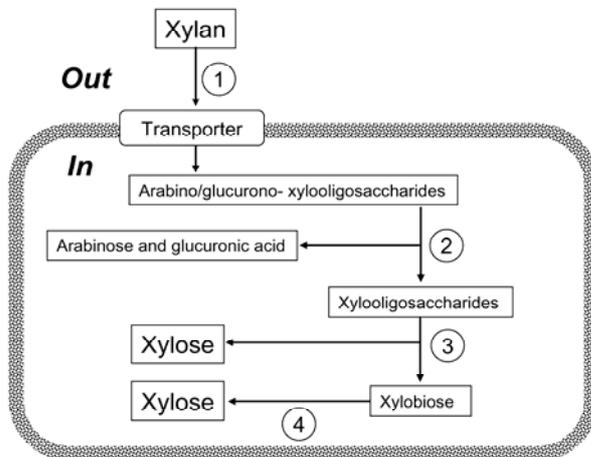


図 2 . *Bacillus halodurans* のキシラン代謝系

- ・エンドキシラーナーゼ + アセチルキシランエステラーゼ
- ・アラビノシダーゼ + グルクロニダーゼ
- ・REX
- ・キシロシダーゼ

[その他]

研究課題名 : オリゴ糖ライブラリーを活用した酵素-糖質の分子間相互作用機構の解明

予算区分 : 運営交付金プロジェクト・形態生理

研究期間 : 2004 ~ 2007 年度 (2004 年度)

研究担当者 : 北岡本光

発表論文等 :

- 1) Y. Honda and M. Kitaoka: A family 8 glycoside hydrolase from *Bacillus halodurans* C-125 (BH2105) is a reducing-end-xylose releasing exo-oligoxylanase, *J. Biol. Chem.*, **279**, 55097-55103(2004)