

P-33

GH19キチナーゼとしては異常に高い分子量をもつ
Aeromonas キチナーゼの構造と機能

○河本大毅, 西平知世, 大沼貴之, 上田光宏*, 深溝 慶

(近畿大院・農, *阪府大院・生環)

The structure and function of a family 19 chitinase
from *Aeromonas* sp. No.10S-24Daiki KAWAMOTO, Tomoyo NISHIHARA, Takayuki OHNUMA,
Mitsuhiro UEDA* and Tamo FUKAMIZO

Department of Advanced Bioscience, Kinki University, 3327-204, Nakamachi, Nara, 631-8505, Japan,

*School of Life and Environmental Science, Osaka Prefecture University,

1-1, Gakuen-cho, naka-ku, Sakai, Osaka, 599-8531, Japan

E-mail : fukamizo@nara.kindai.ac.jp

Chitinases degrade chitin by hydrolyzing the β -1,4-glycosidic linkage, and are divided into two families (family 18 and family 19) on the basis of their amino acid sequences. Family 18 chitinases are widely distributed in living organisms, whereas family 19 chitinases are found mostly in plants and some prokaryotic organisms. Although family 18 chitinases and family 19 chitinases from plants have been investigated intensively, information on the family 19 chitinases from prokaryotic organisms is quite limited. We report here the structure and function of a family 19 chitinase produced by *Aeromonas* sp.No.10S-24.

【緒言】

キチナーゼはキチンの β -1,4グリコシド結合を加水分解する酵素であり、アミノ酸配列の相同性からFamilyGH18およびGH19に分類される。様々な生物種に見出されるGH18キチナーゼとは異なり、GH19キチナーゼは植物と一部の細菌にのみ存在する。GH18キチナーゼ全般および植物由来GH19キチナーゼには、構造および機能的多型が存在することが明らかにされているが、細菌由来GH19キチナーゼに関する情報は少ない。本研究では*Aeromonas* sp.No.10S-24の生産する分子量の大きいGH19キチナーゼの触媒ドメイン(AeroChi19 CatD, 46 kDa)の構造と機能を調べることを目的とした。

【結果】

野生型AeroChi19 CatDと変異体E393QおよびE393Aの活性を比較したところ、変異体では活性が顕著に低下し、Glu393が触媒残基であると同定できた。HPLC解析により本酵素はキチンオリゴ糖の6糖を主に2糖と4糖に加水分解しており、植物由来GH19キチナーゼとは明らかに異なる分解様式を示した。熱変性実験によって T_m 値の上昇より基質結合性を評価したところ、基質重合度依存的に ΔT_m 値が上昇した。他のGH19キチナーゼの ΔT_m 値と比較するとAeroChi19 CatDの方が ΔT_m 値が大きいことから、AeroChi19 CatDが基質に対して高い親和性を示すことがわかった。ITCによる結合実験ではE393A変異体において熱力学的結合定数を得ることができ、この結合反応はエンタルピー駆動型であることがわかった。