

L-グルコース結合タンパク質の発見

— Session 3: 自然界にL-glucose (α -L-glucoside)が存在する可能性の探索 —

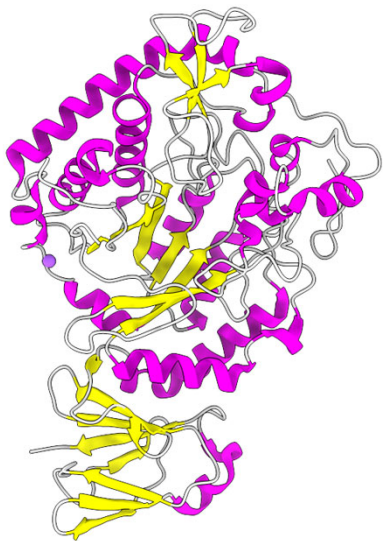
北海道大学 大学院農学研究院 基盤研究部門
応用生命科学分野 分子酵素学研究室

奥山 正幸

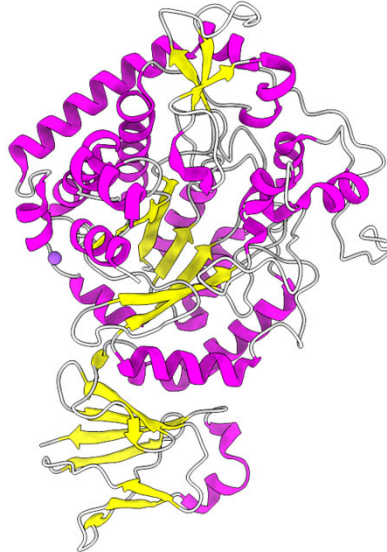
第2回 L-glucose研究会 2025年4月26日 @大阪公立大

α-L-グルコシダーゼの発見 *Cecembia lonarensis*

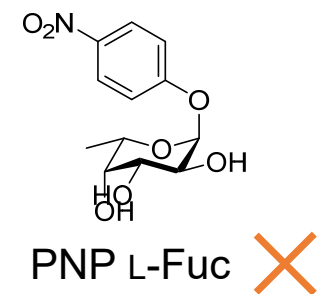
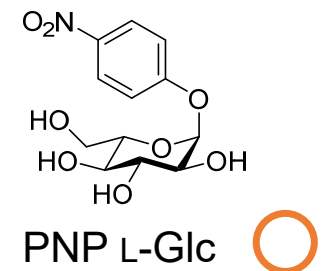
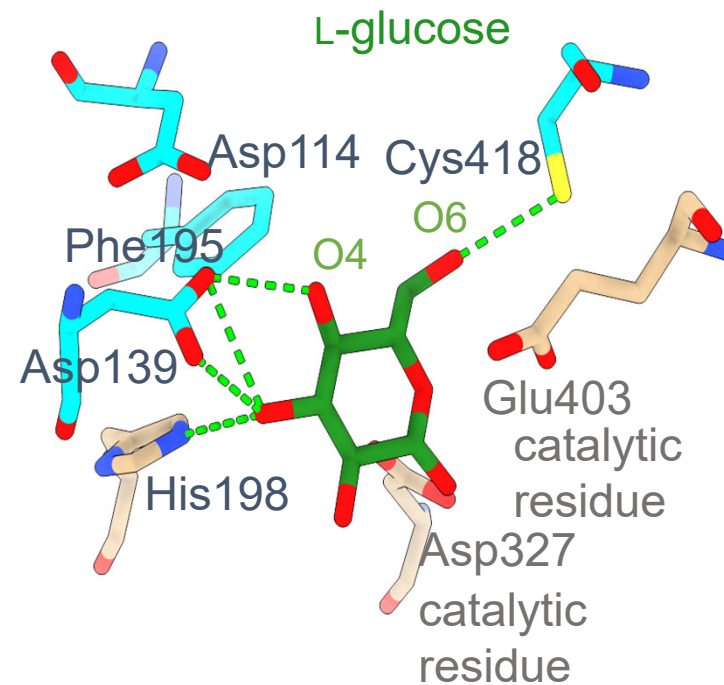
CIAGl29A



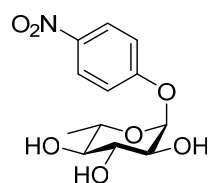
CIAGl29B



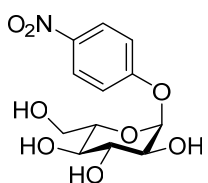
CIAGl29Bの活性中心の特徴



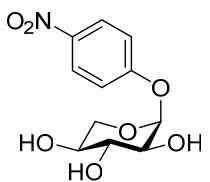
C. lonarensis α-L-グルコシダーゼの基質特異性



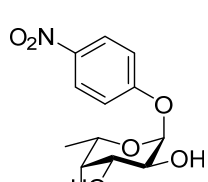
PNP L-Qui



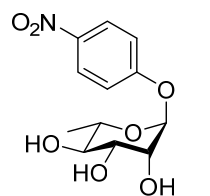
PNP L-Glc



PNP L-Xyl



PNP L-Fuc

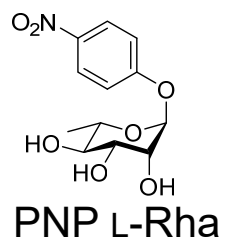
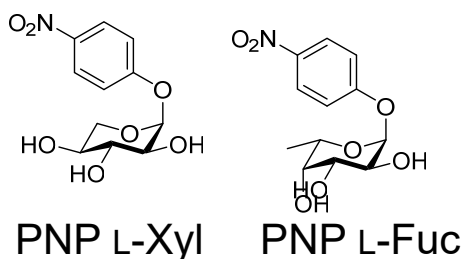
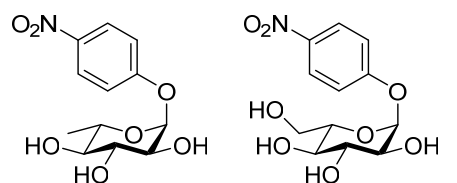


PNP L-Rha

	K_m (mM)	k_{cat} (s ⁻¹)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ mM ⁻¹)	K_i (mM)
CIAGl29A				
PNP L-Qui	0.268±0.015	1.97±0.09	7.35±0.47	
PNP L-Glc	2.01±0.26	2.00±0.11	1.00±0.08	
PNP L-Xyl	4.13±1.20	0.940±0.230	0.232±0.024	4.07±1.91
PNP L-Fuc	0.279±0.005	0.0658±0.0008	0.236±0.005	
CIAGl29B				
PNP L-Qui	0.417±0.029	4.59±0.37	12.2±0.7	
PNP L-Glc	1.79±0.18	7.76±0.41	4.34±0.22	
PNP L-Xyl	7.90±2.24	3.98±0.92	0.509±0.044	0.287±0.140
PNP L-Fuc	0.240±0.011	0.0844±0.0019	0.352±0.007	



C. lonarensis α-L-グルコシダーゼの基質特異性

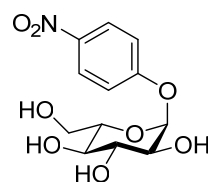


	K_m (mM)	k_{cat} (s ⁻¹)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ mM ⁻¹)	K_i (mM)
CIAGl29A				
PNP L-Qui	0.268±0.015	1.97±0.09	7.35±0.47	
PNP L-Glc	2.01±0.26	2.00±0.11	1.00±0.08	
PNP L-Xyl	4.13±1.20	0.940±0.230	0.232±0.024	4.07±1.91
PNP L-Fuc	0.279±0.005	0.0658±0.0008	0.236±0.005	
CIAGl29B				
PNP L-Qui	0.417±0.029	4.59±0.37	12.2±0.7	
PNP L-Glc	1.79±0.18	7.76±0.41	4.34±0.22	
PNP L-Xyl	7.90±2.24	3.98±0.92	0.509±0.044	0.287±0.140
PNP L-Fuc	0.240±0.011	0.0844±0.0019	0.352±0.007	

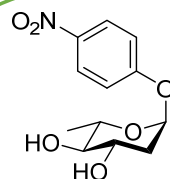


α -L-グルコシダーゼホモログ(137)はほとんどメタゲノム由来

Phylum	
Actinomycetota	7
Bacteroidota	79
Candidatus Hydrogenedentota	4
Candidatus Zhuqueibacterota	5
Kiritimatiellota	11
Planctomycetota	3
Verrucomicrobiota	17
Acidobacteriota	1
Candidatus Sumerlaeota	1
unclassified bacteria	7
Thermoplasmatota	1
Promethearchaeota	1

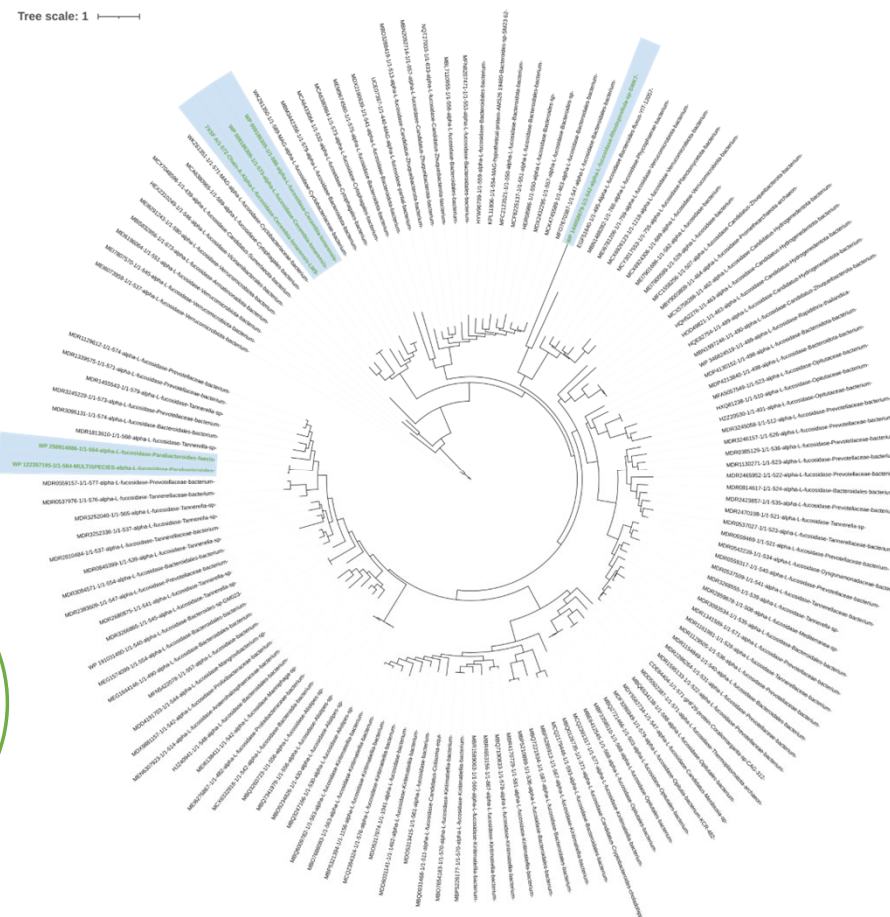


PNP α -L-グルコシド



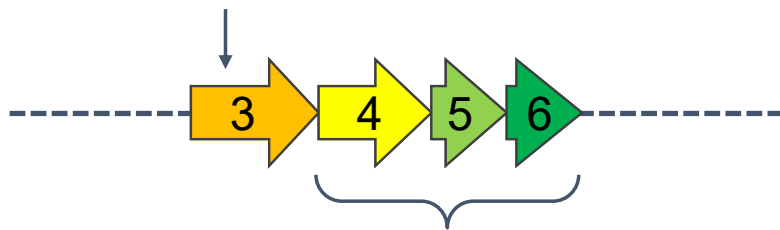
PNP α -L-オリボシド

Tree scale: 1



タンガニーカ湖のメタゲノム (Bacteroidetes bacterium) 中の α -L-グルコシダーゼ様近傍にABCトランスポーターがコード

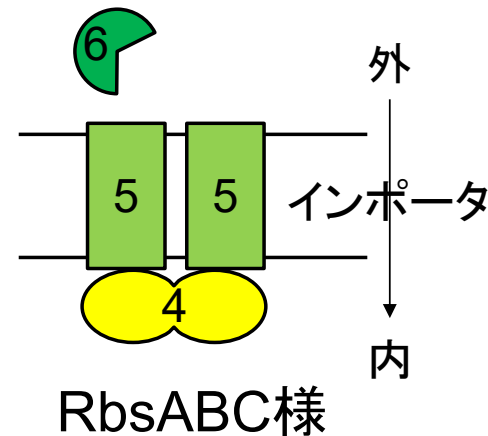
α -L-グルコシダーゼ様



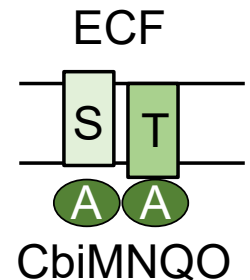
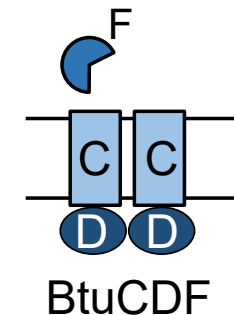
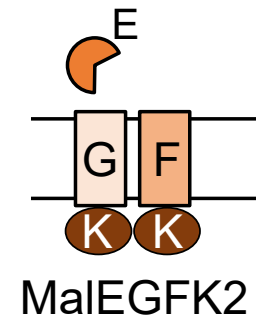
ABCトランスポーター様

- 4. ATP結合タンパク質
- 5. 透過酵素 (permease)
- 6. 溶質結合タンパク質

ABCトランスポーター様

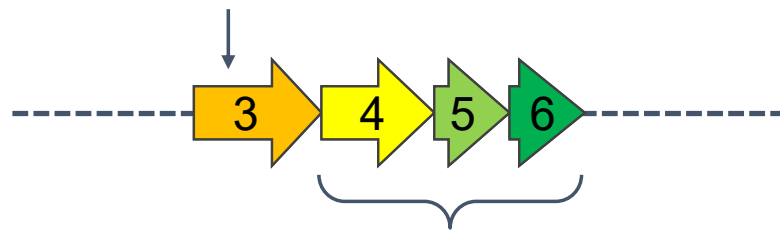


グラム陰性菌の
他のABCトランスポーター



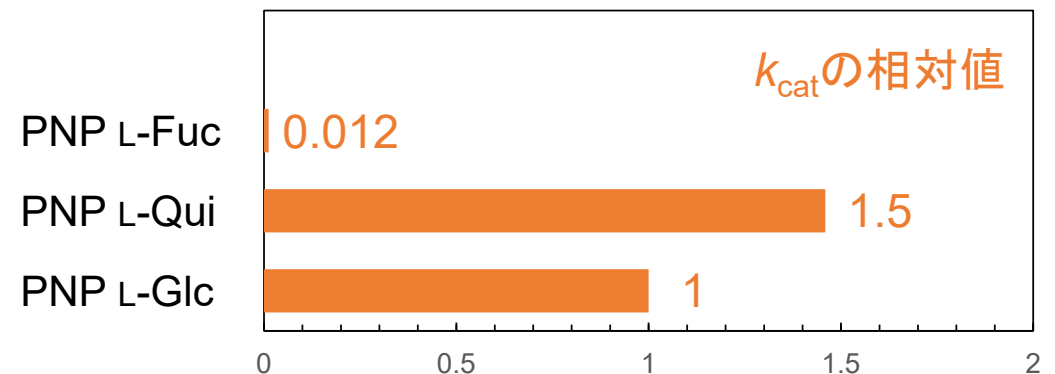
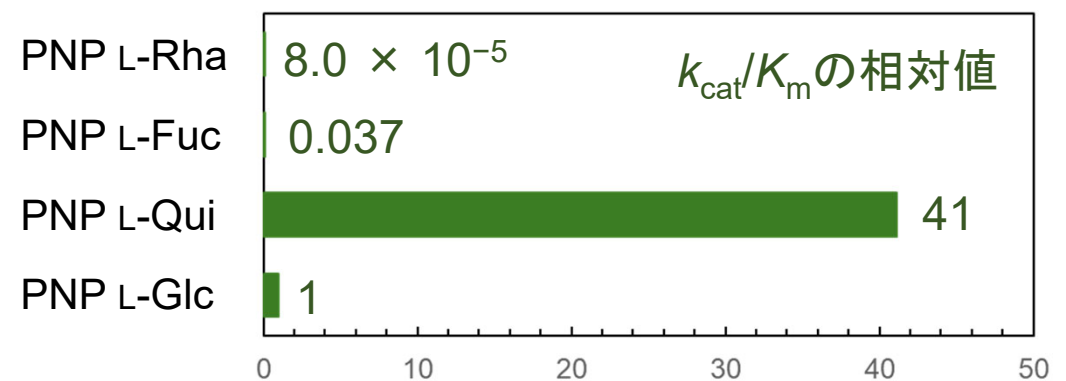
タンガニーカ湖のメタゲノム (Bacteroidetes bacterium) 中の α -L-グルコシダーゼ様の基質特異性

α -L-グルコシダーゼ/
 α -L-キノボシダーゼ

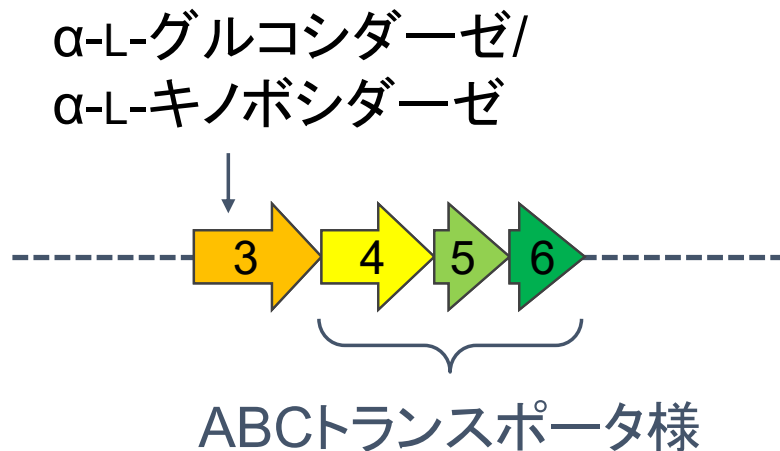


ABCトランスポータ様

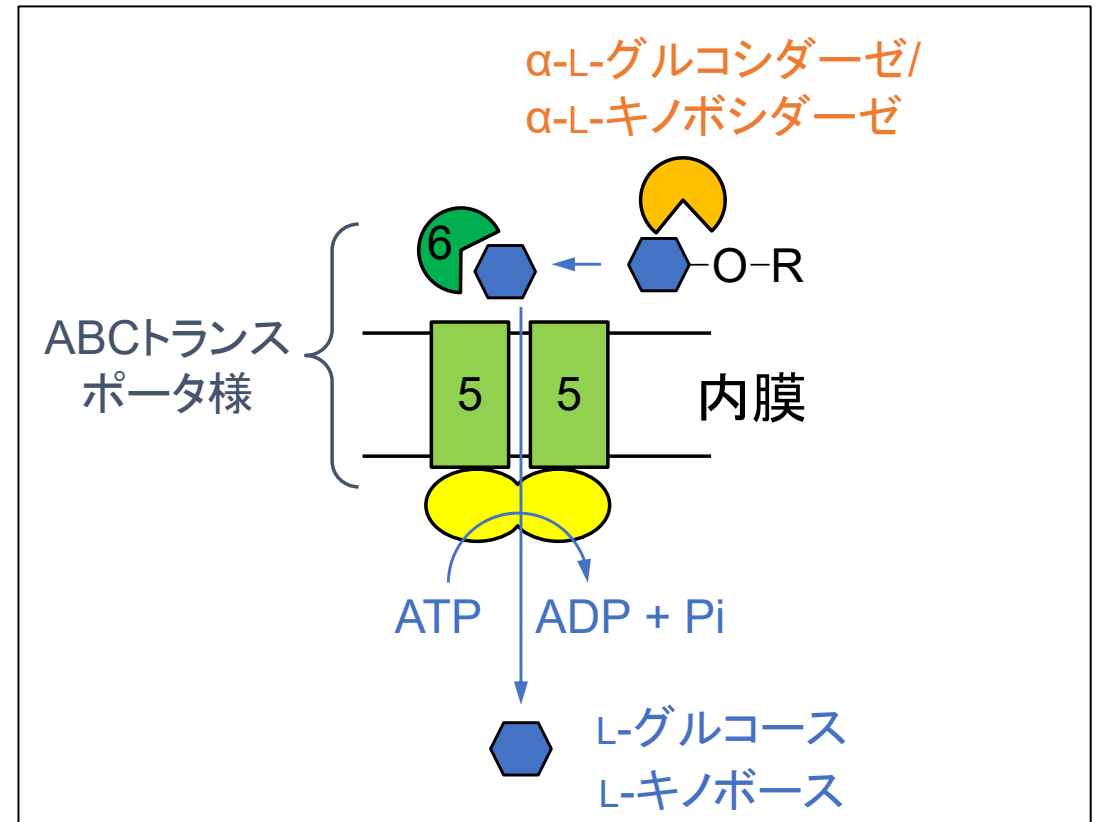
α -L-グルコシダーゼ様の基質特異性



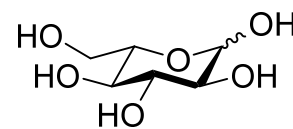
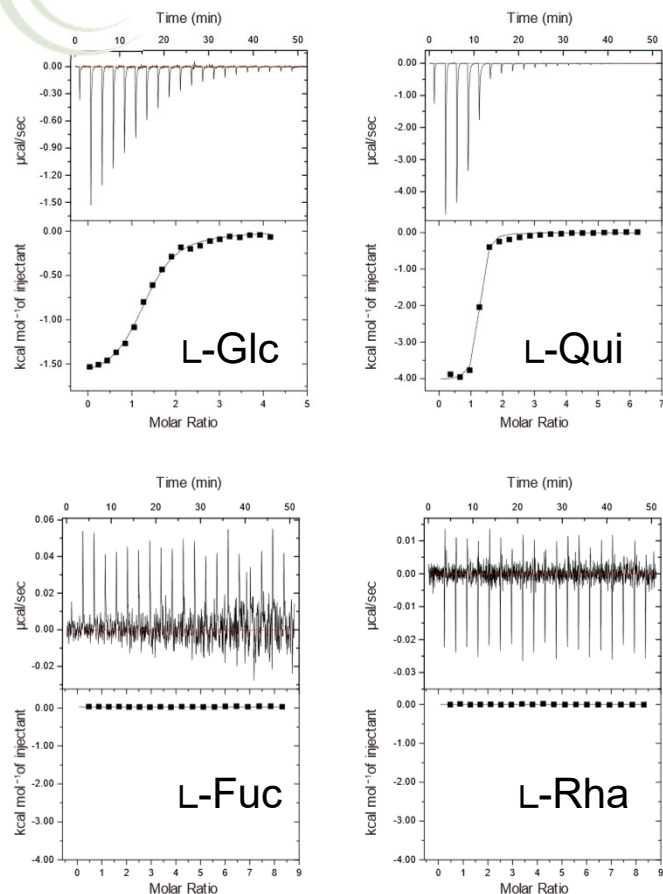
タンガニーカ湖のメタゲノム (Bacteroidetes bacterium) 中の α -L-グルコシダーゼとABCトランスポーター



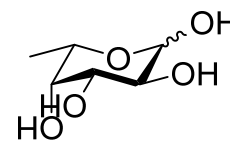
- 4. ATP結合タンパク質
- 5. 透過酵素 (permease)
- 6. 溶質結合タンパク質



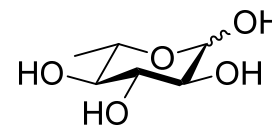
溶質結合タンパク質のリガンド特異性 (ITC)



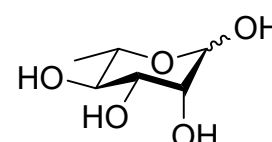
L-Glc



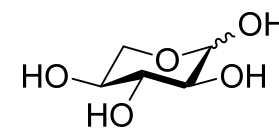
L-Fuc



L-Qui



L-Rha

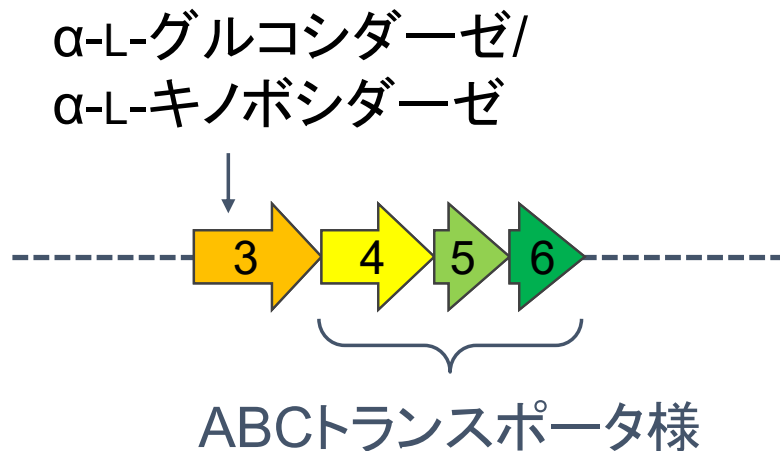


L-Xyl

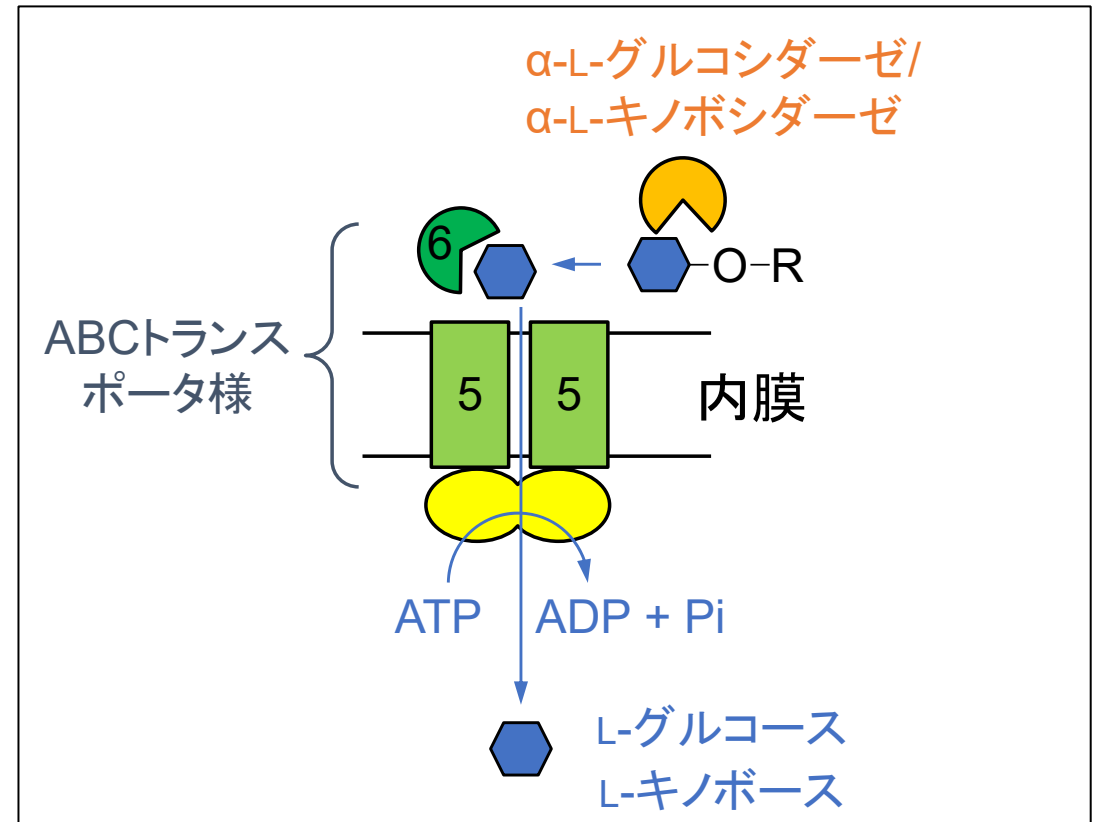
	K_D (μM)	ΔH (kcal/mol)	ΔS (cal/mol/deg)	N (sites)
L-Glc	28.5 ± 2.4	-1.69 ± 0.03	15.0	1.28 ± 0.02
L-Qui	2.35 ± 0.50	-4.04 ± 0.06	12.1	1.14 ± 0.01
L-Xyl	25.4 ± 2.5	-2.59 ± 0.06	12.2	0.86 ± 0.02



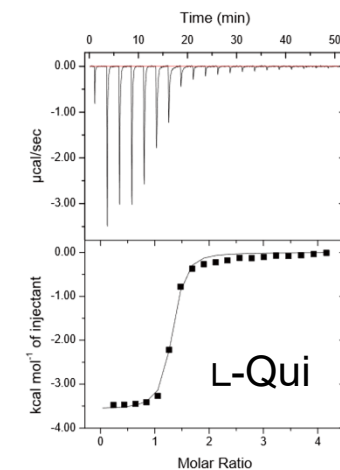
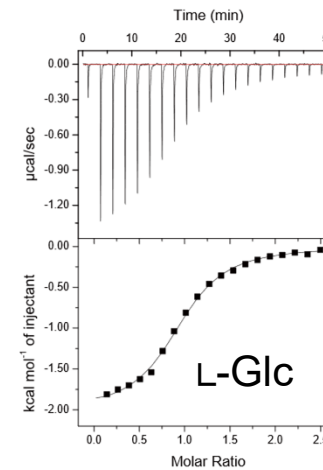
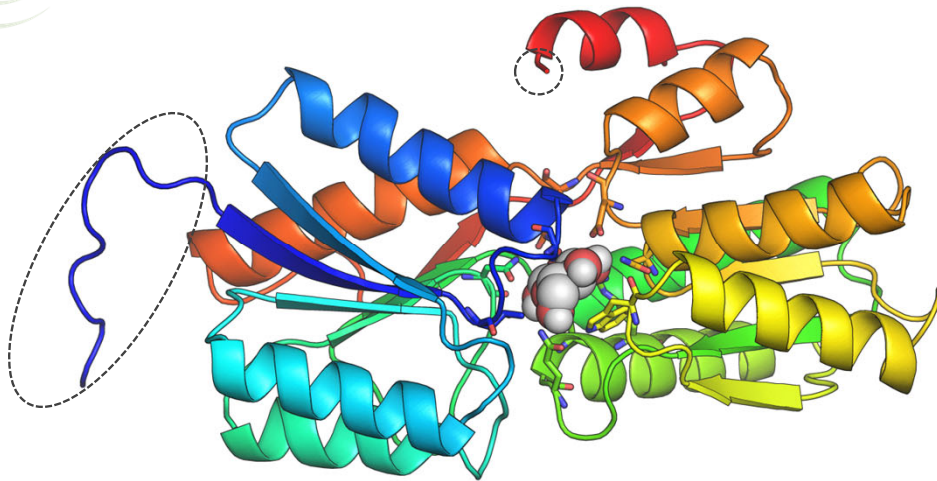
タンガニーカ湖のメタゲノム (Bacteroidetes bacterium) 中の α -L-グルコシダーゼとABCトランスポーター



- 4. ATP結合タンパク質
- 5. 透過酵素 (permease)
- 6. 溶質結合タンパク質



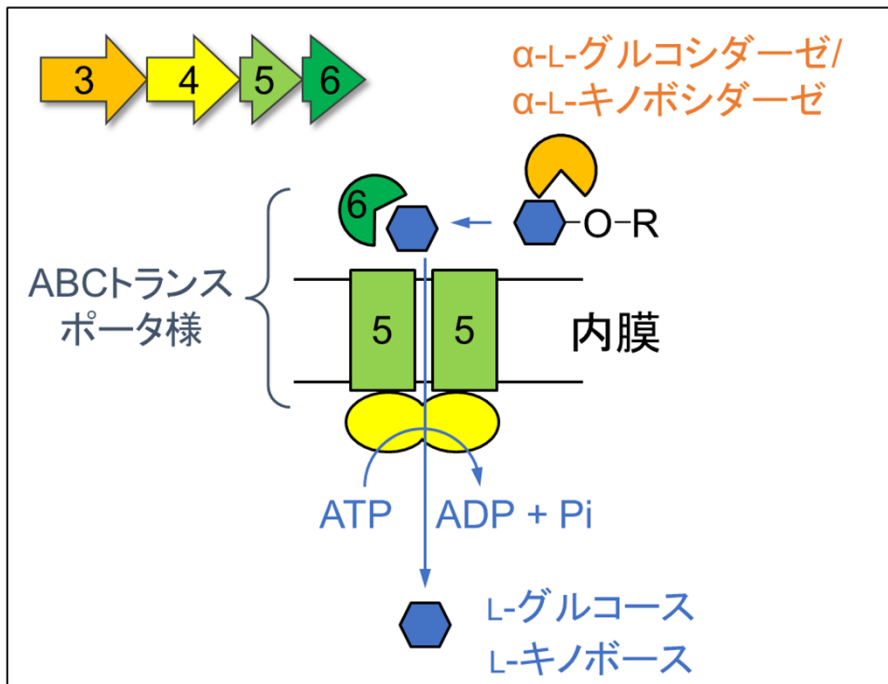
溶質結合タンパク質末端削除体の作製



	K_D (μM)	ΔH (kcal/mol)	ΔS (cal/mol/deg)	N (sites)
L-Glc	19.3 ± 1.4	-2.01 ± 0.03	14.7	0.95 ± 0.01
L-Qui	2.55 ± 0.52	-3.57 ± 0.06	13.5	1.24 ± 0.01



ABCトランスポーターホモログ



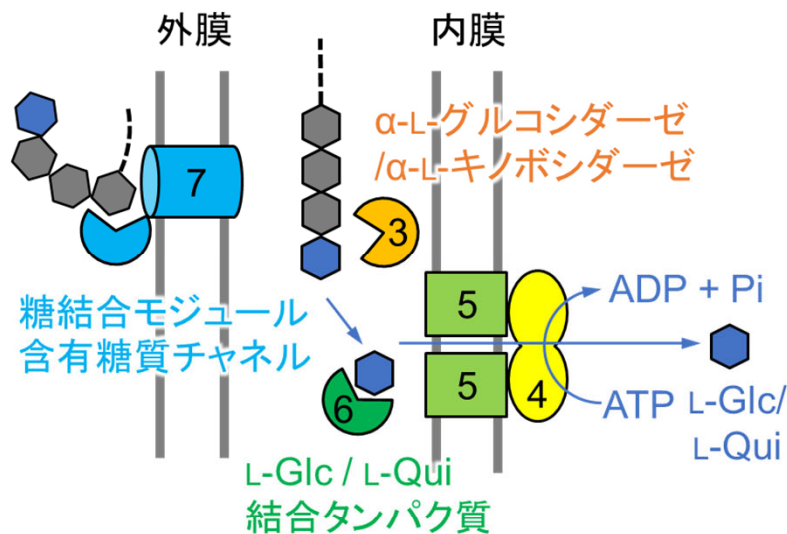
161種 生物 でホモログを確認 (CAGECAT)

phylum 門	genus 属
Bacteroidota	118 Anditalea, Rhabdobacter, Agriterribacter, Terrimonas, Spirosoma, Arcticibacterium, Emticicia, Rhodocytophaga, Dyadobacter, Fibrisoma, Larkinella, Nibrella, Persicitalea, Ravibacter, Runella, Solitalea
Balneolota	3 Fodinibius, Halalkalibaculum
Planctomycetota	3
Verrucomicrobiota	3
Pseudomonadota	3 Pleomorphomonas
Spirochaetota	1 Treponema
Acidobacteriota	1
Bacillota	29 Bacillus, Geobacillus, Ectobacillus, Fredinandcohnia, Metabacillus, Neobacillus, Priestia, Brevibacillus, Cohnella, Paenibacillus, Lihuaxuella, Marinithermofilum, Crassaminicella

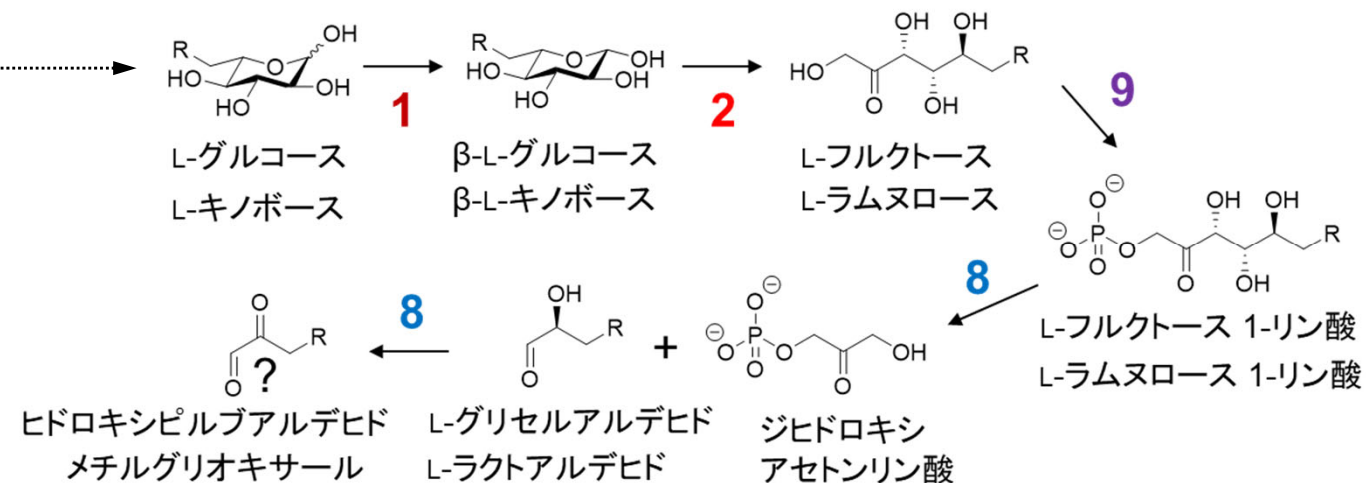
タンガニーカ湖のメタゲノム (Bacteroidetes bacterium) 中の α-L-グルコシダーゼ周辺遺伝子



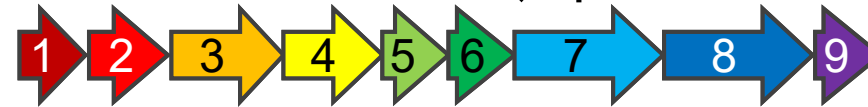
1. 糖エピメラーゼ様, 2. 糖イソメラーゼ様,
3. α-L-グルコシダーゼ様,
4. ATP結合タンパク質様, 5. パーミターゼ様, 6. L-Glc / L-Qui結合タンパク質,
7. 糖結合モジュール含有糖質チャネル様,
8. 糖アルドラーゼ/短鎖脱水素酵素様, 9. 糖キナーゼ様



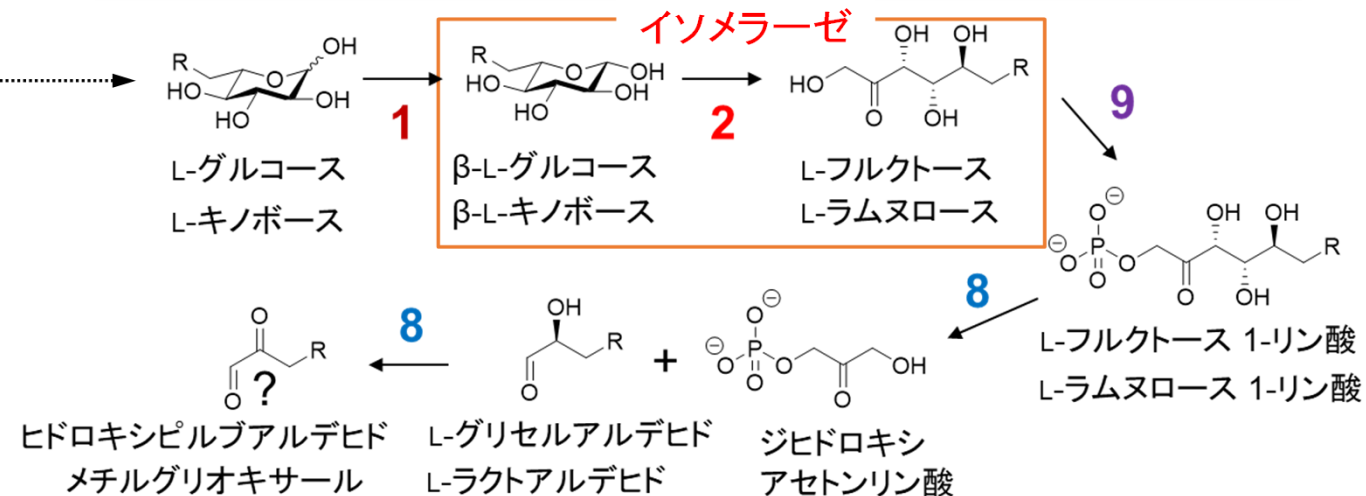
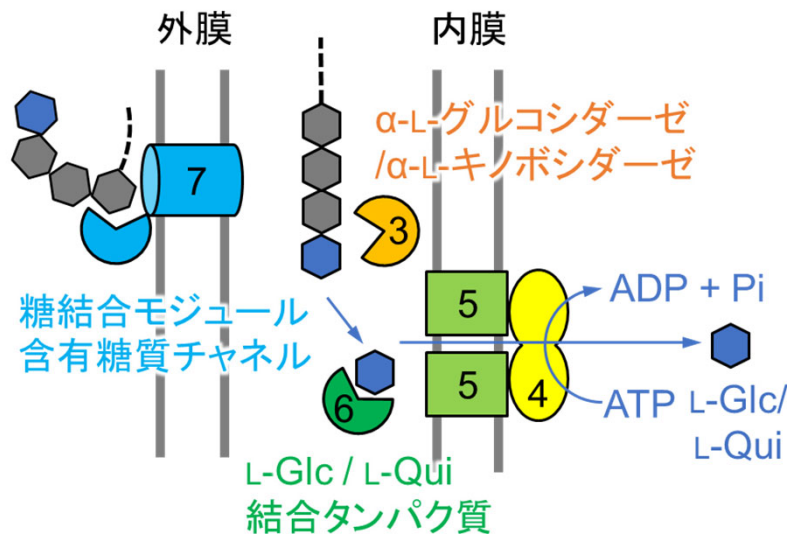
糖結合モジュールのリガンド特異性
天然α-L-グルコシド探索の鍵？



タンガニーカ湖のメタゲノム (Bacteroidetes bacterium) 中の α-L-グルコシダーゼ周辺遺伝子



1. 糖エピメラーゼ様, 2. 糖イソメラーゼ様,
3. α-L-グルコシダーゼ様,
4. ATP結合タンパク質様, 5. パーミターゼ様, 6. L-Glc / L-Qui結合タンパク質,
7. 糖結合モジュール含有糖質チャネル様,
8. 糖アルドラーゼ/短鎖脱水素酵素様, 9. 糖キナーゼ様



糖結合モジュールのリガンド特異性
天然α-L-グルコシド探索の鍵？