

サイズの異なる二つの *Listeria innocua* キチナーゼの発現を大腸菌で成功

概要：

キチナーゼは、キチンの β -(1 \rightarrow 4) グリコシド結合を加水分解する酵素で、幅広い生物が有している。非病原性細菌 *Listeria innocua* が持つ 2 種のキチナーゼ様遺伝子 (lin0153, lin1996) は、食品媒介細菌の一つである *L. monocytogenes* の病原性に関与するキチナーゼととても高い同一性を持つ。リステリアキチナーゼの酵素化学的性質の研究は、ヒトへの感染におけるキチナーゼの機能的役割の解明に繋がることから、*L. innocua* から二種のキチナーゼ様遺伝子をクローニングし、大腸菌で発現させた。それら遺伝子産物の特性を、人工基質[4NP-(GlcNAc)₂]や天然基質 (コロイダルキチン、鎖長の異なるオリゴ糖) を用いて調べた。

LinChi78 (lin0153 遺伝子産物)と LinChi35 (lin1996 遺伝子産物)は、大腸菌で可溶性タンパク質として得られ (図 1)、人工基質に対してそれぞれ中性または酸性条件下で最適な活性を示した。コロイダルキチンを基質とした時、両酵素は主に二量体を生成した (図 2)。しかし、種々の重合度が異なるオリゴ糖基質に対する分解挙動を調べた結果、LinChi78 と LinChi35 は、それぞれ進行型エキソ型と非進行型エンド型の加水分解様式で作用することが示唆された。これら性質の違いは、活性部位中のサブサイト付近のアミノ酸の違いに起因していると考えている。



図 1. 取得したキチナーゼの模式図と各ドメイン
Catalytic domain: 触媒ドメイン
FnIII: フィブロネクチン III 型ドメイン
CBD: キチン結合ドメイン

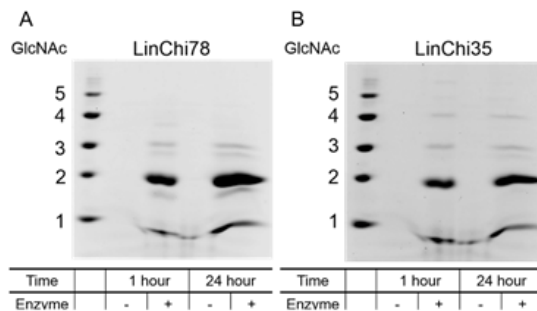


図 2 LinChi78 (A) と LinChi35 (B) による分解挙動 (基質: コロイダルキチン)

Marker: GlcNAc オリゴ糖
反応温度: 50 °C 反応 pH: pH 6.0 (A), pH 5.0 (B)
反応時間: 1h, 24h

<発表雑誌>

雑誌情報: Applied Microbiology and Biotechnology, **100**, 8031–8041 (2016).

論文名: Characterization of two *Listeria innocua* chitinases of different sizes

that were expressed in *Escherichia coli*

DOI: 10.1007/s00253-016-7546-0

発表者: 工学院大学 先進工学部 生命化学科 生物医化学研究室

Honda, S., Wakita, S., Sugahara, Y., Kawakita, M., Oyama, F. and Sakaguchi, M.