



Title	ルーメン細菌に見られたヘミセルロースの新しい分解機構：オリゴ糖異性化酵素と加リン酸分解酵素による糖代謝
Author(s)	佐分利, 亘
Citation	化学と生物, 52(1), 13-14 https://doi.org/10.1271/kagakutoseibutsu.52.13
Issue Date	2014-01-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67706
Rights	Copyright © 2014 公益社団法人 日本農芸化学会
Type	journal article
File Information	52(1)Saburi.pdf



(1) ルーメン細菌に見られたヘミセルロースの新しい分解機構

(2) 佐分利 亘

(3) 北海道大学 大学院農学研究院

(4) Discovery of a New Degradation Pathway of Hemicellulose in
Ruminal Bacterium

Wataru Saburi

ウシなどの反芻動物の第一胃（ルーメン，瘤胃）は，細菌や原生動物（繊毛虫）などの嫌気性微生物による飼料植物の分解・発酵の場である．これらの共生微生物は植物の繊維物質を分解する多様な酵素を生産する．*Ruminococcus albus* は，ルーメン細菌の一種であり，本菌株のセルラーゼやキシラナーゼなどの植物多糖分解酵素は古くから研究対象とされてきた．Tyler と Leatherwood が 1967 年に本菌株の培養液中に見出したセロビオース 2-エピメラーゼ (CE) は，セロビオース (Glc β 1-4Glc) の還元末端側のグルコース残基をマンノース残基に異性化して 4-O- β -グルコシルマンノース (Glc β 1-4Man) を生成する．⁽¹⁾ 反応は平衡でセロビオース側に偏っており，セロビオースの約 30%が 4-O- β -グルコシルマンノースに変換される．セロビオース以外にラクトース (Gal β 1-4Glc) や β -1,4-マンノビオース (Man β 1-4Man) といった β -1,4-結合からなるオリゴ糖にも作用する．このようなオリゴ糖のエピメリ化を触媒する酵素は他に例がなく，CE は糖質に作用する酵素の中でとりわけユニークな酵素である．2007 年に明らかにされた *R. albus* の CE の配列⁽²⁾を基に相同性検索を行うと，CE ホモログは嫌気性細菌だけでなく好気性細菌にも広く存在することが判明した．⁽³⁾ CE はルーメンという特殊な環境に生育する細菌に見出された酵素であるが，広く分布する糖質の代謝経路で機能する可能性がある．

腸内細菌 *Bacteroides fragilis* も CE を持つが，本菌株の CE 遺伝子はヘミセルロースの一種マンナンを加水分解する β -マンナーゼをコードする遺伝子と 4-O- β -マンノシルグルコース (Man β 1-4Glc) を加リン酸分解して α -マンノース 1-リン酸とグルコースを生成する新規酵素 4-O- β -マンノシルグルコースホスホリラーゼ (MGP) をコードする遺伝子とオペロンを形成している．⁽⁴⁾ このことから，CE は β -1,4-マンノビオースを 4-O- β -マンノシルグルコースに異性化して加リン酸分解に導く機能を担うと考えられた．CE の β -1,4-マンノビオースへの反応では 70%の収率で 4-O- β -マンノシルグルコースが生成される．

R. albus のゲノム中には *B. fragilis* のような遺伝子クラスターは見られないが，2 つの MGP ホモログ (RaMP1 と RaMP2) が存在する．RaMP1 の *B. fragilis* の MGP との配列同一性は 59%と高いが，RaMP2 は 27%と低い．酵素機能を

調べると RaMP1 は 4-O- β -マンノシルグルコースに特異的なホスホリラーゼであり、*B. fragilis* の MGP と同様な役割を担うと考えられた。⁽⁵⁾ 一方、RaMP2 は 4-O- β -マンノシルグルコースよりも三糖以上の β -1,4-マンノオリゴ糖に高い加リン酸分解活性を示す。このことから RaMP2 の機能は、三糖以上の β -1,4-マンノオリゴ糖を β -1,4-マンノビオースにまで加リン酸分解して α -マンノース 1-リン酸を生成することと考えられた (図 1)。残った β -1,4-マンノビオースは *B. fragilis* と同様に代謝されると考えられる。この代謝経路では重合度 n のマンノオリゴ糖は 1 分子のグルコースと $n-1$ 分子の α -マンノース 1-リン酸に分解される。糖リン酸を加リン酸分解により直接生成することは、糖代謝において糖のリン酸化に伴う ATP の消費を抑えることができ、特に嫌気性条件下での生育に有利である。*R. albus* のマンナン代謝に関する知見はなかったが、ゲノム中には 8 つもの β -マンナーゼ様遺伝子が存在する。培養試験を行うと本菌株はマンナンを唯一の炭素源として生育し、菌体外への β -マンナーゼの分泌生産が確認された。どの β -マンナーゼがマンナンの初期分解に関与しているのか、今後解析を進めていきたい課題である。*R. albus* のゲノムには、 α -マンノシルリン酸を D-マンノース 6-リン酸、D-フルクトース 6-リン酸へと変換する各酵素をコードする遺伝子は存在するが、細胞質内でマンノースをリン酸化する酵素の遺伝子は見当たらない。 β -1,4-マンノビオースを 4-O- β -マンノシルグルコースに変換することで細胞質内でのマンノースの生成を回避する必要があるのかもしれない。マンナンの分解の過程でオリゴ糖を異性化する意義について、今後より詳細に解析していきたい。

図 1

- 1) T.R. Tyler & J.M. Leatherwood : *Arch. Biochem. Biophys.*, **119**,363 (1967).
- 2) S. Ito, S. Hamada, K. Yamaguchi, S. Umene, H. Ito, H. Matsui, T. Ozawa, H. Taguchi, J. Watanabe, J. Wasaki & S. Ito: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **360**, 640 (2007).
- 3) 佐分利 亘, 小島 晃代, 佐藤 央基, 田口 秀典, 森 春英, 松井 博和 : *応用糖質科学*, **3**, 137 (2013).

- 4) T. Senoura, S. Ito, H. Taguchi, M. Higa, S. Hamada, H. Matsui, T. Ozawa, S. Jin, J. Watanabe, J. Wasaki & S. Ito : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **408**, 701 (2011).
- 5) R. Kawahara, W. Saburi, R. Odaka, H. Taguchi, S. Ito, H. Mori & H. Matsui : *J. Biol. Chem.*, **287**, 42389 (2012).

図 1. *R. albus* におけるマンナン代謝経路

マンナンは菌体外で β -マンナーゼの作用でオリゴ糖に加水分解される。三糖以上のオリゴ糖は RaMP2 により β -1,4-マンノビオースまで加リン酸分解される。 β -1,4-マンノビオースは CE により 4-O- β -マンノシルグルコースに異性化された後, RaMP1 により加リン酸分解される。 α -マンノシルリン酸はホスホマンノムターゼとホスホマンノースイソメラーゼによりフルクトース 6-リン酸に変換されて解糖系により代謝されると推測される。

＜プロフィール＞

御芳名（漢字および英文表記）

佐分利 亘（Wataru SABURI）

出身校、卒業年次

2001 年 北海道大学 農学部 応用生命科学科卒業

卒業後の御略歴

2006 年 北海道大学大学院農学研究科博士後期課程修了，日本食品化工株式会社研究所研究員／2010 年 北海道大学大学院農学研究院助教，現在に至る

現在の研究テーマ、抱負、あるいは興味をもっておられることなどお聞かせ下さい

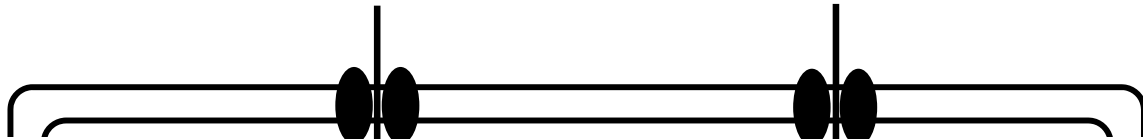
＜研究テーマ＞糖質代謝関連酵素の探索，構造・機能解析，蛋白質工学的手法による酵素機能の改変，有用糖質の効率合成法の開発．＜抱負＞ 新しい酵素を発見する，あるいは創ることで有用糖質を開発し，世の中の役に立てたい．

趣味 スキー，スノーボード，ゴルフ，家庭菜園，料理，日曜大工，育児





菌体外 β -マンナーゼによる
マンナンの分解



RaMP2による加リン酸分解



CEによるエピメリ化

RaMP1による加リン酸分解



4-O- β -マンノシルグルコース

α -マンノース1-リン酸

グルコース

マンノース-6-リン酸

フルクトース-6-リン酸

解糖系へ