



金沢大学
KANAZAWA
UNIVERSITY



平成26年 6月 4日

分解酵素にとって結晶性キチンは双方向の高速道路だった：未利用バイオマスからの物質生産につながる重要な手がかり

発表のポイント：

- ◆キチン分解酵素の分子が、結晶性キチンの表面を分解しながら動く様子を観察することにより、世界で初めて成功しました。
- ◆2種類のキチン分解酵素が、それぞれ反対方向に進みながら分解することで、非常に長い分子であるキチンを効率よく分解していることが可視化されました。
- ◆海洋性の生物は大量のキチンを作りますが、現在ほとんど利用されていません。キチンやセルロース等の未利用バイオマスを酵素で分解して利用するための重要な情報を得ることができました。

発表内容：

キチン^{注1}は、エビやカニなどの殻として普段の生活でも比較的良好に目にする物質ですが、その他にも昆虫の外皮、かびやきのこ、珪藻の細胞壁として、地球上の様々な生物に含まれている多糖です。アセチルグルコサミンが数千から数万個つながってキチン分子を作り、さらにそれらが束になって、キチン繊維を作ります。植物が自分の体を支えるためにセルロース^{注2}の繊維を使っているのに対して、エビやカニ、昆虫などの節足動物では体のまわりをキチンの繊維からできた殻（外骨格とよばれています）で覆うことで体を硬くしています。セルロースとキチンは、バイオマスとして莫大な量が地球上に存在しますが、どちらも「化学的に安定で硬い」という共通の性質を持っているため、溶かして成分を取り出すという利用を難しくしています。私たち人間がキチンやセルロースを溶かして利用しようとする、高温で化学処理をしたり、強酸で煮たりしないといけないので、科学が進展した現代でも、キチンやセルロースを様々な物質に変換して利用するという技術はほとんど実用化されていません。ところが自然界に目を向けてみると、たとえばエビやカニの殻で海があふれることはありませんし、森で倒れた木もいつの間にか朽ちて無くなってしまいます。これは分解酵素を持った微生物が、キチンやセルロースを溶かして栄養源として

いるからです。この分解酵素をうまく利用することができれば、キチンやセルロースなどの「未利用バイオマス」を人間社会で使っていくことができるのではないかと、というのが私たちの研究の原点です。

今回は、新潟大学が長年にわたって研究してきたキチンを分解して成長することができる *Serratia marcescens* という細菌が、キチンを分解するときに使う二種類の酵素（キチナーゼ A とキチナーゼ B）を実験材料として使い、二つの酵素が結晶性のキチンを分解する様子は、金沢大学で開発された高速原子間力顕微鏡（high speed atomic force microscopy, HS-AFM）^{注3}と呼ばれる特殊な顕微鏡によって観察しました。この顕微鏡は、様々な分子を直接観察できる上に、一枚の画像を 1/100 秒もの速さで撮影できるところが特徴です。キチンのサンプルとしては深海に生息するゴカイの一種、サツマハオリムシが自分の体の周りに作る棲管から調製した結晶性の β （ベータ）キチンを用いました。

金沢大学と東京大学の研究チームは、すでに HS-AFM を使って結晶性セルロースを分解する酵素（セルラーゼ）を観察することに成功していましたが、今回の観察ではキチナーゼがセルラーゼと比較してとても速く動いていたため、セルラーゼの実験に使った解析法を使うことができませんでした。そこで、キチナーゼの動きを追うための新たな画像解析手法を開発し、キチナーゼの動きを解析しました。その結果、キチナーゼ A が 1 秒間に 71 回、キチナーゼ B が 47 回と、セルラーゼがセルロースを分解する速度（1 秒間に 10 回程度）と比較して、非常に速いことがわかりました。キチナーゼやセルラーゼの分子の長さは約 10 nm 程度なので、これを車長が 5 メートルの自動車と考えると、スケール速度はキチナーゼ A が時速 130 キロ、キチナーゼ B が時速 85 キロなのに対して、セルラーゼの時速が 18 キロということになります。また、セルラーゼ分子はセルロース表面で「渋滞」を起こしてしまうことが知られていましたが、キチナーゼではそのような現象は観察されませんでした。

過去に行った 2 種類のセルラーゼ（*TrCel6A* と *TrCel7A*）を混ぜた実験では、セルロース分解は一方向であったのに対して、キチナーゼ A とキチナーゼ B を混ぜると双方向に進む分子の様子が観察されました。これまでもキチナーゼ A とキチナーゼ B の構造（図 1）から、二つの酵素は逆方向に分解するのではないかと考えられてきましたが、実際に逆方向に反応している分子の動きを捉えることができたのは、今回の実験が初めてです。

これらの結果を統合して考えると、キチナーゼ A とキチナーゼ B はキチンの表面を「高速」で「双方向」に動きながら分解していることが明らかとなりました。これまでの研究で私たちは、セルラーゼが都内の一般道を走る車のように渋滞してしまうせいで分解反応が遅いと考えてきましたが、キチナーゼの場合はまるで高速道路を移動する車のようにスムーズに移動できるために分解活性が高いということが、今回の実験でわかってきました。

キチンやセルロースは自然界に最も豊富に存在するバイオマスですが、未だに資源としての利用ができていないのが現状です。これらのバイオマスを様々な物質に変換する技術開発は、資源の乏しい我が国では非常に重要なことです。化石資源に頼らない循環型社会

の構築のためにも、キチンやセルロースを原料として医薬品や食料、各種素材や燃料などを作る研究を今後も推し進めていけたらと考えています。

本研究で使用されたサツマハオリムシ (*Lamellibrachia*, *satsuma*) は、(独) 海洋研究開発機構 (JAMSTEC) の無人探査機「ハイパードルフィン」によって採取されたものです。

また、本研究の一部は、日本学術振興会の科学研究費補助金新学術領域研究「植物細胞壁の情報処理システム」(領域代表：東北大学 西谷和彦 教授)、「少数性生物学：個と多数の狭間が織りなす生命現象の探求」(領域代表：大阪大学 永井健治 教授)、「生命分子システムにおける動的秩序形成と高次機能発現」(領域代表：自然科学研究機構 加藤晃一 教授)「理論と実験の協奏による柔らかな分子系の機能の科学」(領域代表：理化学研究所 田原 太平 主任研究員)、文部科学省科学研究費補助金 基盤研究 (B) (研究代表者：五十嵐圭日子)、基盤研究 (A) (研究代表者：内橋貴之)、科学技術振興機構 先端的低炭素化技術開発 (ALCA) (研究代表者：五十嵐圭日子) の補助を受けたものです。深く感謝いたします。

発表雑誌：

雑誌名：「Nature Communications」(オンライン版：6月4日)

論文タイトル：Two-way Traffic of Glycoside Hydrolase Family 18 Processive Chitinases on Crystalline Chitin

著者：*†Kiyohiko Igarashi (五十嵐圭日子), *Takayuki Uchihashi (内橋貴之), Taku Uchiyama (内山 拓), Hayuki Sugimoto (杉本華幸), Masahisa Wada (和田昌久), Shohei Sakuda (作田庄平), Kazushi Suzuki (鈴木一史), Toshio Ando (安藤敏夫), †Takeshi Watanabe (渡邊剛志), Masahiro Samejima (鮫島正浩)

*共同筆頭著者, †責任著者

DOI 番号：10.1038/ncomms4975

問い合わせ先：

金沢大学 理工研究域 数物科学系

准教授 内橋 貴之 (うちはし たかゆき)

Tel : 076-264-5712

携帯番号 : 090-9443-3038

Fax : 076-264-5739

E-mail : uchihast@staff.kanazawa-u.ac.jp

用語解説：

(注1) キチンは、N-アセチルグルコサミン（ぶどう糖の水酸基の一つがアセトアミド基に変化した糖）が直鎖状につながった多糖で、エビやカニなどの甲殻類の「殻」に含まれる物質として一般的によく知られています。その他にも、昆虫や軟体動物、菌類など広く存在することが知られており、セルロースに次いで地球上に豊富に存在する生物資源（バイオマス）です。しかし、セルロースと同じように分解性が低いので、これまで未利用バイオマスとして位置づけられてきました。近年キチンから得られるオリゴ糖やグルコサミンの機能が報告されてきており、キチンを分解して様々な物質に変換する技術開発が望まれてきています。

(注2) セルロースは、グルコース（ブドウ糖）が直鎖状につながった多糖で、植物細胞壁の約半分を占める物質です。地球上で、最も豊富に存在する有機物であり、植物によって二酸化炭素と水から光合成によって作り出されるので、再生可能なバイオマスとしての利用が望まれています。

(注3) 原子間力顕微鏡は、探針（プローブ）を観察対象の表面に沿って走査することで観察対象の形の情報（画像）を得ます。しかしながら従来の原子間力顕微鏡は1画像取得するのに数分を要していたため、対象物の変化をリアルタイムで追うことは困難でした。金沢大学の安藤敏夫教授らのグループは、様々な改良を行うことで走査の高速化に成功し、リアルタイムで画像が撮れる高速原子間力顕微鏡を世界で初めて開発しました。

添付資料：

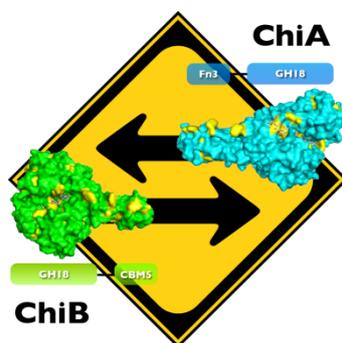


図1 キチナーゼ A (ChiA PDB コード: 1K9T) とキチナーゼ B (ChiB PDB コード: 1UR9) の三次元構造を比較すると、ChiA、ChiB ともにキチンを分解するタンパク質部分 (GH18 ドメイン) は同じ方向で付いているが、図中でとがった部分 (ChiA では Fn3 ドメイン, ChiB では CBM5 ドメイン) が GH18 ドメインの逆側に付いているために、動きが反対になると考えられてきた。今回の実験では高速原子間力顕微鏡によって二つの酵素がキチンの表面を逆方向に進みながら分解していることが観察され、その仮説が証明された。

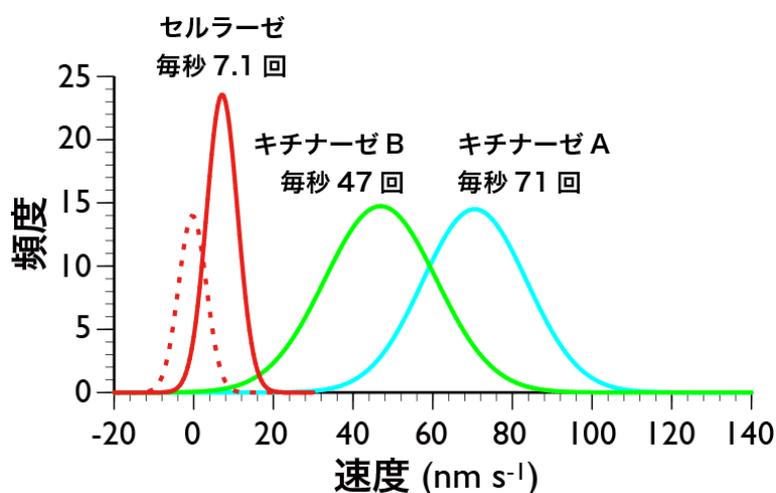


図2 キチナーゼ A, キチナーゼ B およびセルラーゼ (*Tr*Cel7A) の移動速度の分布を比較するとキチナーゼがセルラーゼより速いことがわかる。キチンは「高速」で「双方向」から分解が行われることが、今回の実験で明らかとなった。