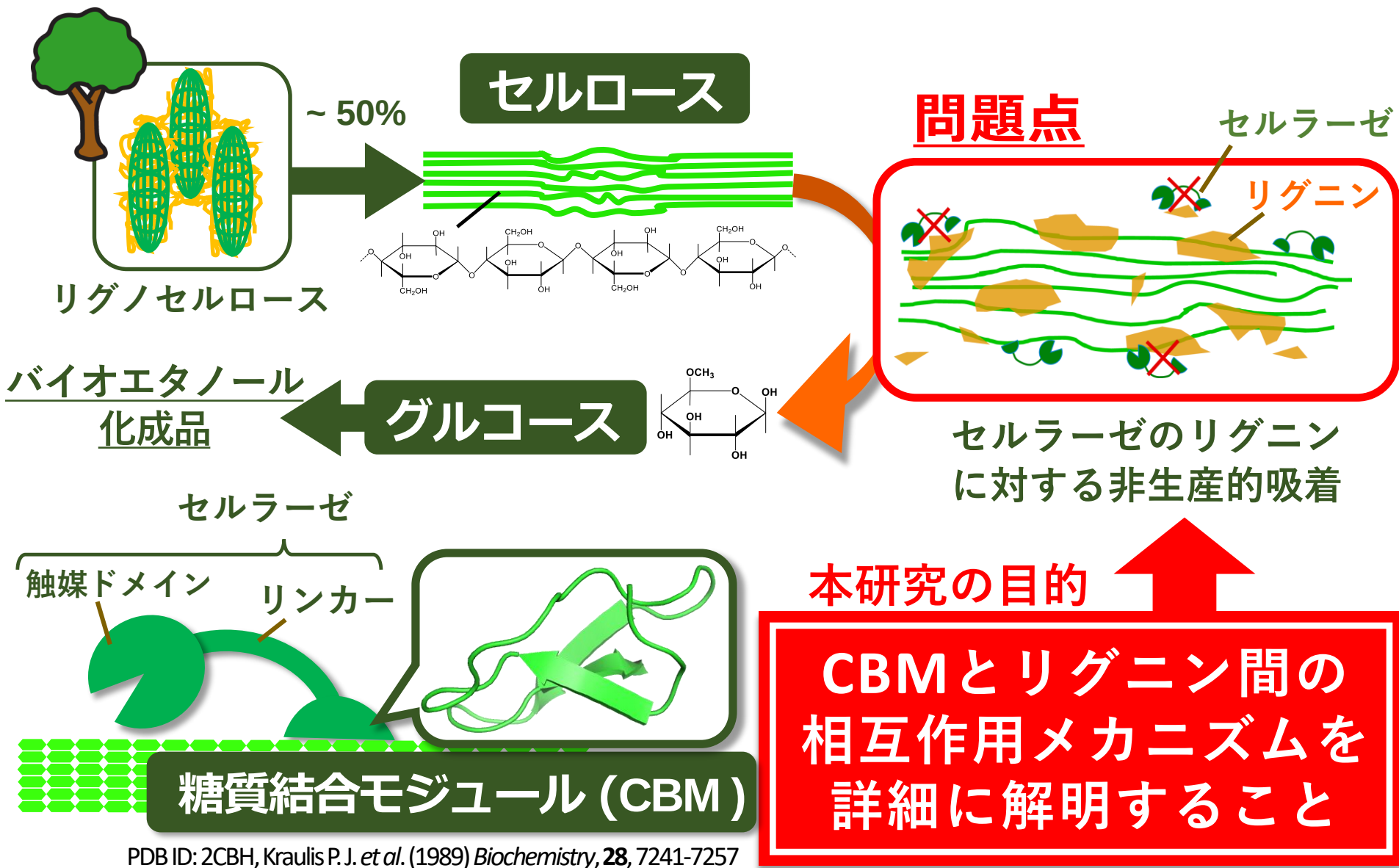


セルラーゼ糖質結合モジュール とリグニン間相互作用部位の NMRによる解析

○ 徳永有希¹, 大城理志¹, 永田崇², 近藤敬子², 片平正人², 渡辺隆司¹

¹京都大学生存圏研究所, ²京都大学エネルギー理工学研究所

背景と目的



実験手法 - NMR滴定実験 -

^{15}N -ラベル化CBM

- ^{15}N -ラベル化 CBM

(溶媒: 100 mM クエン酸バッファー pH 5.0)

- 2 mM DSS (内部標準)

- D_2O

測定条件

装置 : Avance III 600
(Bruker Daltonics)

HSQC so fast

観測核 : ^1H - ^{15}N

積算回数 : 16

滴定剤の添加 (リグニンまたは糖)

^{15}N -ラベル化
CBM

+ 滴定剤

+ 滴定剤

+ 滴定剤

...

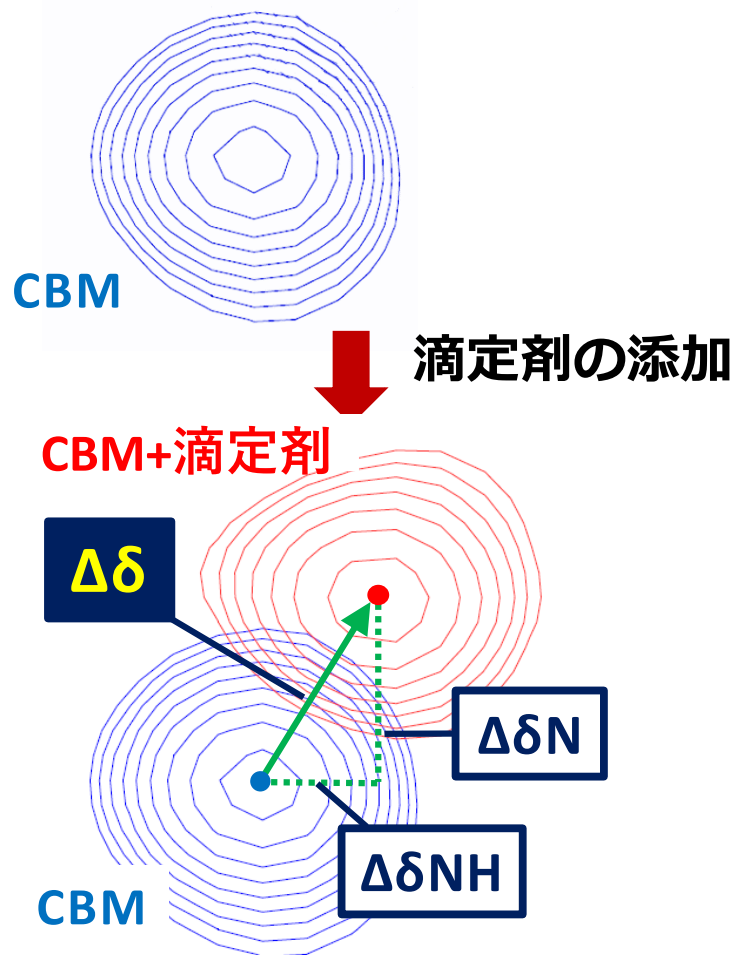
測定

測定

測定

測定

実験手法 - NMR滴定実験 -



$$\Delta\delta \text{ (ppm)} = \sqrt{(0.17\Delta\delta N)^2 + (\Delta\delta NH)^2}$$

滴定剤の種類

MWL : Milled Wood Lignin

スギ MWL
(溶媒 : d_6 -DMSO)

ユーカリ MWL
[*Eucalyptus globulus*]
(溶媒 : d_6 -DMSO)

セロヘキサオース
(溶媒 : 100 mM クエン酸バッファー)

スギ MWL

M_n : 1915, M_w : 6254
 M_w / M_n : 3.266

ユーカリ MWL

M_n : 1688, M_w : 5776
 M_w / M_n : 3.463

結論

- ^{15}N -ラベル化したCBMを単一分子量かつ正常フォールディングした状態で取得することに成功した。
- NMRによる分子間相互作用解析により、CBMはチロシン周辺の平滑面とその反対側のクレフト構造で特異的にセロヘキサオースと結合するが、MWLとはそれらの結合サイトに加えて様々な表層アミノ酸で結合する違いを見出した。

謝辞

荻田修一 教授 (三重大大学)

高田理江 様 (京都大学生存圏研究所)

村上麻衣 様 (京都大学生存圏研究所)

末富高志 様 (京都大学生存圏研究所)

本研究を遂行するにあたり以上の方々からのご協力を受け賜りました。心より感謝申し上げます。