



コンピュータシミュレーションによってセルロース繊維形成機構の一端を解明

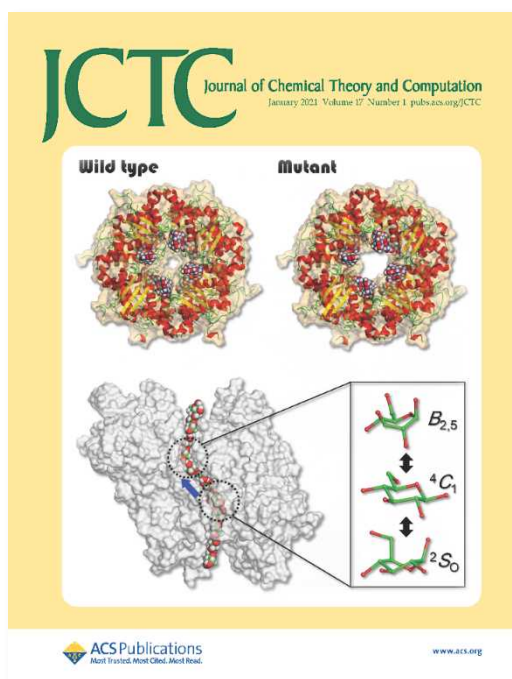
概要

宮崎大学工学部環境応用化学科教授の湯井敏文を代表とする、宮崎大学キャリアマネジメント推進機構テニユアトラック推進室の宇都卓也助教、北海道大学大学院工学研究院応用化学部門の田島健次准教授、北海道大学大学院先端生命科学研究院の姚閔教授、および東京大学大学院農学生命科学研究科の砂川直輝特任助教による研究グループは、植物細胞壁の主要成分であるセルロース繊維が形成される仕組みの一端をコンピュータシミュレーションによって明らかにした。微生物由来セルロース合成酵素複合体の構成要素であるサブユニット D (CeSD) は立体構造が解明されたにもかかわらず、その機能が不明とされていた。本研究グループは先端的分子シミュレーション¹手段であるマルチスケールシミュレーション法を駆使し、CeSD がペリプラズム内におけるセルロース分子鎖の移動を周期的に制限する様子を示した。この知見をもとに、CeSD が4本単位でセルロース分子鎖の移動を同期させ、分子鎖の規則的な配列を補助することでセルロース繊維の高結晶化に寄与する機構を提案した。

以上の成果は、バクテリアセルロース繊維形成機構の解明を一步すすめるだけでなく、本研究知見に基づいて遺伝子操作等による手段でバクテリアセルロース繊維の改変・高機能化への指針を与えることが期待される。

本研究成果は、2020年12月31日に、計算化学²分野ではトップクラスに位置する米国化学会の国際学術雑誌「Journal of Chemical Theory and Computation」誌 (IF=5.011) にオンラインで公開され、2021年1月12日 (米国標準時) に本研究成果がフロントカバーを飾った同論文掲載号が発刊された。

本研究は科学研究費助成事業 (科学研究費補助金・基盤研究 C17K00409/研究代表者・湯井敏文) および九州大学情報基盤研究開発センターの重点支援制度 (スーパーコンピュータシステム ITO/研究代表者・宇都卓也) の助成を受けて実施した。シミュレーション計算の一部は、自然科学研究機構 岡崎共同利用施設・計算科学研究センター (RCCS) のスーパーコンピュータで実施された。



Journal of Chemical Theory and Computation,
Vol. 17 (1) 488-496, 2021

表紙図解説

上図は、野生型および変異型セルロース合成酵素サブユニット D (CeSD) と 4 本のセルロース分子鎖との複合体を上面方向から見た様子である。変異型 CeSD は、野生型と比較して中央部により大きな空洞を持ち、セルロース分鎖は溶媒側に広く露出している。

下図は、S 字状に屈曲したセルロース分子鎖が結合した野生型 CeSD の内部断面図を横方向から見た様子である。2ヶ所の屈曲部において、セルロース分子鎖を構成するグルコース残基はピラノース環構造を可逆的に変形させている。矢印 (青) は、セルロース合成時におけるセルロース分子鎖の移動方向を示す。

解説

“たくさん有る”だけでセルロースを語ってはいけない！

宮崎県はスギの生産日本一を誇り、豊富な森林資源を有する。古来、人類が木材を建築材料や家具等に利用できたのは、植物が丈夫な繊維材料でつくられているためである。その植物繊維の主要成分はセルロースと呼ばれ、グルコースが β -1,4結合によって連結した天然高分子である（図1上）。セルロースは地球上で一兆八千億トンも蓄積され、地球上最大のバイオマスとして知られるが、この膨大な存在量はセルロースが持つ特徴の一面にすぎない。セルロース繊維を、さらに、直径十数ナノメートル（1ナノメートルは1メートルの10億分の1）まで解して得られるセルロース単繊維はセルロースナノファイバー（CNF）と呼ばれ、同じ直径を持つ鋼鉄の5倍の強度を持つことが知られている。CNFがこのような並外れた強度を示す理由は、天然繊維を構成するほぼすべてのセルロース分子鎖が繊維軸に沿って同じ方向に配列し（高配向）、セルロース分子鎖が規則正しく配置される（高結晶）ためである（図1下）。現在の紡糸技術をもって、このような完璧に近い高配向・高結晶性のナイロンやポリエステル等の合成繊維を製造することは不可能である。県北有数の企業である旭化成（株）が製造する再生セルロース繊維（キュプラ）は、セルロースを溶媒中で溶解した後、湿式紡糸によって繊維を再生させるが、この再生セルロース繊維と元の天然セルロース繊維の間で、セルロース分子鎖の集合構造が全く異なり、繊維としての特性も異なる。

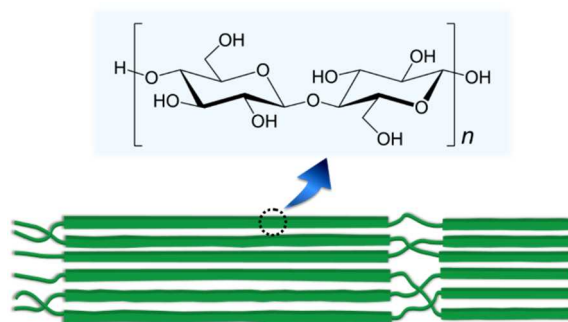


図1. セルロース化学構造(上)とセルロース繊維構造の模式図(下)

セルロース繊維は巧みな生物機械によって紡がれる

生体内でこのような高結晶性繊維が形成される仕組みについて、多くの国内外の研究者による解明が試みられた。特に、極細のセルロース繊維を産生する酢酸菌をモデル系とする生合成機構の解明が盛んに行われている。細胞表面のターミナルコンプレックス（TC）と呼ばれる構造体から排出される複数のセルロース分子鎖が細胞外で徐々に束ねられ、繊維構造が形成されることが知られている。TCは、セルロース合成酵素サブユニットA～D（CeSABCD）で構成される酵素複合体に相当する（図2）。CeSABにおいて、グルコー

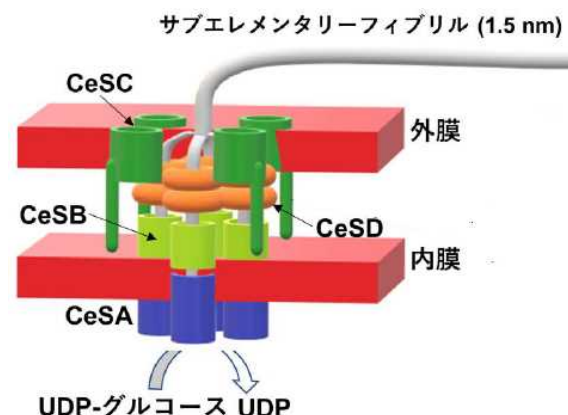


図2. セルロース合成酵素複合体（許可を得て参考文献1より転載）

スが連結され、セルロース分子鎖が合成される。最近、米国の研究グループによってセルロース合成菌の一種である *Rhodobacter* 由来の CeSAB の立体構造が解明され、セルロース分子鎖合成の仕組みも提案された。一方、CeSD については、北海道大学の田島、河野（当時）、砂川（当時）によって遺伝子が単離され、遺伝子発現に成功した。その後、同大学の姚、田島グループによって立体構造が解明された。

セルロース分子鎖を“通す”だけが CeSD の役割でないようだ

CeSD の立体構造は、一見、単純である。同じタンパク質が 8 個集合するホモ八量体構造を形成し、4 か所の二量体間の隙間（dimer-dimer interface）が、CeSAB で生合成されたセルロース分子鎖の通路となる（図 3）。ここで問題となったのは、この CeSD がセルロース繊維生合成機構にどのように機能するのか分からないことであった。CeSAB の役割は上で述べた通りであり、CeSC は細胞外膜にセルロース分子鎖の通路を提供すると思われた。

本研究では、まず、分子モデリング³ 手段を駆使し、4 か所の CeSD 二量体間通路に沿ってセルロース分子鎖を結合させた。その結果、通路は直線ではなく、セルロース分子鎖は 2 か所で折れ曲がる S 形状を示した（図 4）。次に、マルチスケールシミュレーションによって CeSD およびセルロース分子鎖の立体構造ゆらぎを観察したところ、CeSD の動きに合わせて、セルロース分子鎖の屈曲部にあるグルコース残基の形態が周期的に変形と回復を繰り返すことが分かった。すなわち、二量体間通路に結合したセルロース分子鎖は、CeSD 表面からの強い制限のもとで移動することが明らかになった。

以上の結果から、我々は、CeSD 全体の周期的な立体構造ゆらぎに併せて 4 本のセルロース分子鎖が二量体間通路を同期して移動するのではないかと推測した。セルロース分子鎖が 4 本単位で移動することで、分子鎖が規則正しく配列されやすくなり、CeSD が繊維の高結晶性化に寄与する繊維構造形成機構を提案した。

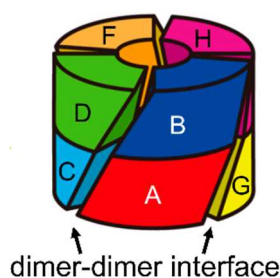


図3. CeSD 八量体構造の模式図（許可を得て参考文献2より転載）

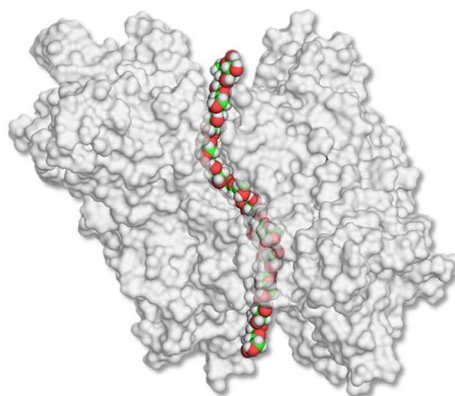


図4. CeSD 二量体間通路に結合したセルロース分子鎖

参考文献

- (1) 田島健次、今井友也、姚閔「酢酸菌におけるセルロースの合成、セルロースナノファイバーを紡ぎだす超精密ナノマシンに迫る」化学と生物 **2020**、vol. 58 (8)、453–460.
- (2) Hu, S. Q.; Gao, Y. G.; Tajima, K.; Sunagawa, N.; Zhou, Y.; Kawano, S.; Fujiwara, T.; Yoda, T.; Shimura, D.; Satoh, Y.; Munekata, M.; Tanaka, I, and Yao, M. Structure of bacterial cellulose synthase subunit D octamer with four inner passageways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 17957–17961.

発表論文

掲載誌：Journal of Chemical Theory and Computation (American Chemical Society)

タイトル：Molecular dynamics simulation of cellulose synthase subunit D octamer with cellulose chains from acetic acid bacteria; Insight into dynamic behaviors and thermodynamics on substrate recognition

著者：Takuya Uto, Yuki Ikeda, Naoki Sunagawa, Kenji Tajima, Min Yao, and Toshifumi Yui

掲載巻号ページ：Vol. 17 (1) 488–496, 2021

DOI：https://dx.doi.org/10.1021/acs.jctc.0c01027

研究グループ

宇都 卓也	宮崎大学キャリアマネジメント推進機構テニユアトラック推進室、助教
池田 祐樹	宮崎大学大学院工学研究科物質環境化学専攻 (現：(株)日立ハイテクソリューションズ)
砂川 直輝	東京大学大学院農学生命科学研究科生物材料科学専攻、特任助教
田島 健次	北海道大学大学院工学研究院応用化学部門、准教授
姚 閔	北海道大学大学院先端生命科学研究院先端融合科学研究部門、教授
湯井 敏文	宮崎大学工学部環境応用化学科、教授

湯井・宇都研究グループ

湯井研究室 Web ページ： <https://www.chem.miyazaki-u.ac.jp/~webms/index.htm>

YouTube チャンネル (湯井・宇都研究室 / Yui & Uto Lab.)：

<https://www.youtube.com/channel/UCYqzeTxMaXaV0MEmGRbyS2g>

問い合わせ先

<研究に関すること>

湯井 敏文（宮崎大学工学部環境応用化学科 教授）

TEL：0985-58-7319、FAX：0985-58-7323、E-mail：tyui@cc.miyazaki-u.ac.jp

<報道に関すること>

宮崎大学 企画総務部 総務広報課 広報係

TEL：0985-58-7114、FAX：0985-58-2886、E-mail：kouhou@of.miyazaki-u.ac.jp

北海道大学 総務企画部 広報課 広報・渉外担当

TEL：011-706-2610/2162、E-mail：kouhou@jimuhokudai.ac.jp

東京大学大学院農学生命科学研究科・農学部

農学系事務部 総務課総務チーム、総務・広報情報担当（広報情報担当）

TEL：03-5841-8179/5484、FAX：03-5841-5028、E-mail：koho.a@gs.mail.u-tokyo.ac.jp

用語解説

1) 分子シミュレーション

ここでは、分子動力学と同義に用いた。すなわち、熱振動による分子立体構造のゆらぎや、それに伴う物理量の変化、および化学反応等をコンピュータ上で再現する研究手段と定義した。特に、タンパク質やセルロースのような“大きな”分子（高分子）に対して有効であり、X線結晶構造解析等が提供する静的な立体構造情報に対して、同法は、分子の動きに由来する特性や機能を明らかにする。

2) 計算化学

量子化学や統計力学等の分子理論を背景として、分子の立体構造やその他の物理的性質、さらに化学反応を研究する手段、またはその理論体系を指す。膨大な計算量を要するため、実際は、計算化学研究はコンピュータを用いて実施する。現在、化学分野において、計算化学は、理論、実験に続く、第3の手段として位置づけられる。

3) 分子モデリング

広義の意味では、計算化学とほぼ同義であるが、ここでは、コンピュータグラフィックスを用いて分子の立体構造を構築し、立体構造に由来する分子特性を解析する研究手段と定義した。

