

## ビフィズス菌の新規なヒトミルクオリゴ糖分解酵素の構造解析と専用シャペロンによる成熟化機構の解明

### Maturation mechanism of a novel glycosidase from Bifidobacteria acting on human milk oligosaccharides

山田千早, 佐藤真与, 荒川孝俊, 伏信進矢\*

東京大学大学院農学生命科学研究科、〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Chihaya Yamada, Mayo Sato, Takatoshi Arakawa and Shinya Fushinobu\*

Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

#### 1 はじめに

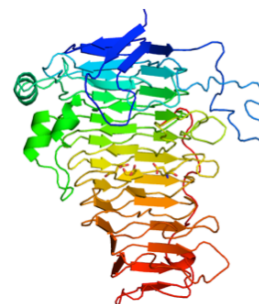
ビフィズス菌は「善玉」乳酸菌として有名であり、ヒトの健康への寄与が科学的に解明されつつある。ビフィズス菌が棲息する小腸下部から大腸の腸管には、澱粉などの分解されやすい糖質はほとんど届かないため、難分解性糖質を利用するための、多様な糖質分解酵素を有する。一般的に、ビフィズス菌の糖質分解酵素には他の細菌にはほとんど見られないユニークな酵素が多く、立体構造の新規性も高いものが多い。我々はこれまで人乳に含まれるオリゴ糖のラクト *N* ビオース (LNB; Gal- $\beta$ 1,3-GlcNAc) 分解経路に関わるビフィズス菌の一連の酵素群の構造・機能解析を行い、その詳細な分子機構を明らかにしてきた。現在では LNB はビフィズス菌増殖因子であることが証明され、分解酵素の逆反応を利用した LNB の安価な酵素合成法も開発されたことから、新規なプレバイオティクスとして有力視されている。ビフィズス菌による LNB 分解の鍵酵素は、オリゴ糖から LNB 部分を切断して遊離する菌体外酵素ラクト *N* ビオシダーゼ (LNBase) である。これまで知られている *Bifidobacterium bifidum* 由来の LNBase は GH20 に属しており、我々は KEK-PF の共同研究課題を利用してその立体構造決定に成功した[1]。一方、ごく最近、*Bifidobacterium longum* から、全く新しいタイプの LNBase (LnbX) が発見された[2]。また、LnbX 遺伝子の下流に存在する LnbY は活性発現に必要であり、LnbX の成熟化を助ける分子シャペロンとして機能すると考えられている。本課題では LnbX と LnbY の X 線結晶構造解析を行い、これらの分子機構を原子レベルで詳細に解明することを目的とした。

#### 2 実験

LnbX の触媒ドメインの結晶化を行い、native ligand-free (2.36 Å 分解能)、Se-Met 置換体の SAD (2.80 Å 分解能)、LNB 複合体 (1.85 分解能) のデータセット測定を行った。

#### 3 結果および考察

得られたデータセットを用いて位相決定を行い、その結果、ligand-free および LNB 複合体の結晶構造の決定に成功した。



図：LnbX の立体構造

#### 4 まとめ

新規ファミリーに属する LnbX の立体構造決定に成功した。現在、論文化の準備をすすめている。今後は、LnbY (単独および LnbX との複合体) の結晶化も目指す。

#### 謝辞

実験をサポートして下さった KEK および PF のみなさん、共同研究者の片山高嶺先生、若木高善先生、伊藤祐博士に感謝いたします。

#### 参考文献

- [1] Ito *et al.*, *JBC* **288**, 11795 (2013)
- [2] Sakurama *et al.*, *JBC* **288**, 25194 (2013)

\* asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp