

## *Listeria innocua* 由来 $\beta$ -グルコシダーゼの結晶構造解析 Structural analysis of $\beta$ -glucosidase from *Listeria innocua*

中島将博<sup>1,\*</sup>, 吉田龍太<sup>1</sup>, 宮永顕正<sup>2</sup>, 中井博之<sup>3</sup>, 田口速男<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京理科大学理工学部応用生物科学科, 〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

<sup>2</sup> 東京工業大学理学院, 〒152-8551 東京都目黒区大岡山 2-12-1-E1-1

<sup>3</sup> 新潟大学農学部応用生物化学科, 〒950-2181 新潟県西区五十嵐 2 の町 8050 番地  
Masahiro Nakajima<sup>1,\*</sup>, Ryuta Yoshida<sup>1</sup>, Akimasa Miyanaga<sup>2</sup>, Hiroyuki Nakai<sup>3</sup> and Hayao Taguchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Applied Bioscience, Tokyo University of Science, 2641 Yamazaki, Noda, Chiba, 278-8510, Japan

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1-E1-1, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo, 152-8551, Japan

<sup>3</sup> Graduate School of Science & Technology, Niigata University, 2-8050, Ikarashi, Nishi-ku, Niigata, 950-2181, Japan

### 1 はじめに

$\beta$ -1,2-グルカンには主に環状糖としての存在が知られている糖鎖である。しかし、その希少性のため $\beta$ -1,2-グルカンに作用する酵素の解析はほとんど行われていなかった。近年、我々は $\beta$ -1,2-グルカンに作用する加リン酸分解酵素を *Listeria innocua* より発見した[1]。この酵素遺伝子のクラスター内には $\beta$ -グルコシダーゼ(LiBGL)と推定される遺伝子が存在している。機能解析により LiBGL がソホロース (Glc- $\beta$ -1,2-Glc) を基質として好む酵素であることを明らかにしていたが[2]、LiBGL の構造は未報告のため機能構造相関は不明であった。そこで、本研究では LiBGL とソホロースの複合体構造を決定することを目的とした。

### 2 実験

LiBGL の野生型酵素、触媒残基変異体の結晶化を行った[3]。得られた結晶を用いて KEK-PF の構造生物学ビームラインにおいて、回折測定実験を行った。変異体の場合は基質をソーキングした結晶を用いた。

### 3 結果および考察

アポ型の LiBGL の構造を分解能 1.8 Å にて決定した[2]。その結果、本酵素は非対称単位中に 2 分子存在し、この 2 分子が十分な接触面積を有することから 2 量体であることが示唆された。興味深いことに、隣のサブユニットから伸びるループが本酵素の活性中心の一部を構成していた。

触媒残基の変異体の結晶を作製し、ソホロースをソーキングしたところ、サブサイト-1 から+1 に明確な基質の電子密度が観察された。サブサイト+1 を構成する Arg572 がソホロースのヒドロキシ基と 4 個の水素結合を形成していることから、この残基が基質特異性に重要な役割を果たしていることが示唆された (図 1)。

サブサイト-1 のグルコースユニットのコンフォメーションは <sup>1</sup>S<sub>3</sub> となっていたことから、結晶中のソホロースの構造がミカエリス複合体における構造であることが示唆された。

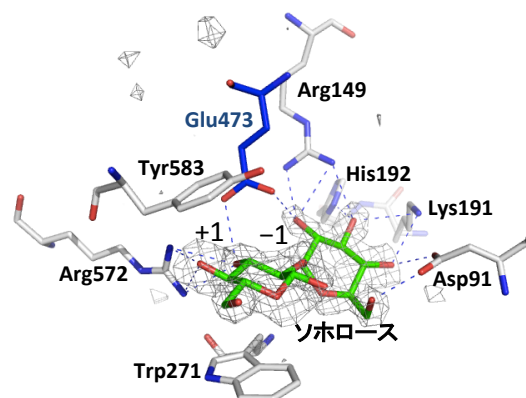


図 1 : LiBGL の触媒残基の変異体とソホロースとの複合体構造

### 謝辞

実験をサポートして下さった PF スタッフの方々に感謝いたします。

### 参考文献

- [1] M. Nakajima *et al.*, *PLOS ONE* **9**, e92353 (2014).  
[2] M. Nakajima *et al.*, *PLOS ONE* **11**, e0148870 (2016).  
[3] M. Nakajima *et al.*, *Acta F* **70**, 1398 (2014).

### 成果

1. 学会発表  
吉田龍太、中島 将博、宮永 顕正、中井 博之、北岡 本光、田口 速男  
日本農芸化学会 2015 年度大会

*Listeria innocua* 由来  $\beta$ -Glucosidase の機能解析と  
基質複合体の構造解析

\* m-nakajima@rs.tus.ac.jp