

ビフィズス菌の植物由来 β -アラビノオリゴ糖鎖分解酵素の構造解析 Crystallography of bifidobacterial enzymes for degradation of plant β -arabinofuranose-containing glycans

丸山瞬, 斎藤圭太, Lixia Pan, 澤野孝太, 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

Shun Maruyama, Keita Saito, Lixia Pan, Kota Sawano, 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

「善玉」乳酸菌として有名なビフィズス菌は、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。植物が持つ糖タンパク質や多糖には、 β -L-アラビノフラノシド結合を含む糖鎖が存在することが知られていたが、このような結合を分解する酵素は近年まで全く知られていなかった。鹿児島大の藤田らは、*Bifidobacterium longum* JCM1217 株から、植物の β -アラビノオリゴ糖代謝に関わる遺伝子群を発見した[1, 2]。我々はそのうち、GH127 に属する β -L-アラビノフラノシダーゼ HypBA1 の立体構造を報告した[3]。HypBA1 の活性中心には Zn^{2+} が存在し、それに配位したシステインが求核触媒として働く非常に珍しいものであった。HypBA1 のホモログ遺伝子は細菌から植物まで幅広く存在し、DUF1680 という大きなタンパク質ファミリーを形成しているが、GH127 に登録されている酵素はそのごく一部である。また、藤田らが発見した新規な β -L-アラビノフラノシド加水分解酵素の中には、同じく新規ファミリーである GH121 に属する β -L-アラビノピオシダーゼ(HypBA2)も存在しているが、その立体構造も分かっていなかった。

本研究では、この分解系を構成する糖質分解酵素およびそのホモログの 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

ビフィズス菌の β -アラビノオリゴ糖分解経路に属する GH121 HypBA2 および HypBA1 ホモログである BLL3 および植物病原菌由来酵素(XCV, XCC)の結晶化を行い、KEK-PF の構造生物学ビームラインを利用して回折測定実験を行った。

3 結果および考察

HypBA2 では前回の課題において、SeMet 法により、2.2 Å 分解能の native 構造の決定に成功していた。しかし、活性部位の周辺と N 末端ドメインで何箇所か電子密度マップが不明瞭な領域が見られていたが、本年度の実験により、触媒ドメイン全体でチェイントレースができるようになった。しかし、活

性部位にリガンドが結合した複合体構造は未だに得られていない。

一方、BLL3 では分解能 1.75 Å で構造決定に成功した。活性部位には Tris 分子が結合しており、HypBA1 とほぼ同じ活性中心を持つことが分かった。さらに、植物病原菌由来の DUF1680 酵素(XCV)の構造決定にも成功している。現在精密化中である。

4 まとめ

HypBA2 の触媒ドメインの全体構造、DUF1680 ファミリー酵素として BLL3 と XCV の構造決定に成功した。

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、共同研究者の鹿児島大の藤田清貴先生、理研の石渡明弘先生、伊藤幸成先生に感謝いたします。

参考文献

- [1] Fujita *et al.*, *JBC* **286**, 5143 (2011)
- [2] Fujita *et al.*, *JBC* **289**, 5240 (2014)
- [3] Ito *et al.*, *BBRC* **447**, 32 (2014)

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