

# *Lachnoclostridium phytofermentans* 由来 1,2-β-オリゴグルカンホスホリラーゼ の結晶構造解析

## Structural analysis of 1,2-β-oligoglucan phosphorylase from *Lachnoclostridium phytofermentans*

中島将博<sup>1,\*</sup>, 古川那由太<sup>1,2</sup>, 宮永顕正<sup>3</sup>, 中井博之<sup>4</sup>, 田口速男<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> 新潟薬科大学応用生命科学部, 〒956-8603 新潟県新潟市秋葉区東島 265 番地 1

<sup>3</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>4</sup> 新潟大学大学院自然科学研究科, 〒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 applied Life Sciences, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences, 265-1 Higashijima, Akiha-ku, Niigata 956-8603, Japan

<sup>3</sup>Department of Chemistry, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1-E1-1, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo, 152-8551, Japan

<sup>4</sup>Graduate School of Science & Technology, Niigata University, 2-8050, Ikarashi, Nishi-ku, Niigata, 950-2181, Japan

### 1 はじめに

β-1,2-グルカンは主に環状糖としての存在が報告されている糖鎖である。しかし、その希少性のためβ-1,2-グルカんに作用する酵素の解析は困難であった。近年、我々はβ-1,2-グルカんに作用する加リン酸分解酵素 1,2-β-オリゴグルカンホスホリラーゼ (SOGP) を *Listeria innocua* より発見した[1]。SOGP は3糖以上のβ-1,2-グルコオリゴ糖を加リン酸分解する酵素であるが、その鎖長特異性を生じる要因は不明であった。また、この酵素での結晶化は困難であったため、本研究では *L. innocua* 由来 SOGP と同じ鎖長特異性を持つ *Lachnoclostridium phytofermentans* (以前は *Clostridium phytofermentans*) 由来 SOGP (LpSOGP) について基質との複合体構造を決定し、SOGP の鎖長特異性を生じる構造的要因を明らかにすることを目的とした。

### 2 実験

LpSOGP の野生型酵素の結晶化を行った[2]。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。初期位相はセレノメチオン置換体を用いた SAD 法により決定した。基質との複合体構造の取得に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 LpSOGP の構造を分解能 2.0 Å にて決定した[2]。その結果、本酵素は非対称単位中に2分子存在したものの、接触面積が少ないことから溶液中

では1分子で存在すると考えられる。LpSOGP と同じファミリーに属する酵素は2量体酵素であり、触媒ドメインともう片方のサブユニットのN末ドメインの界面に活性部位が存在している。しかし、LpSOGP はそれらの酵素にはないN末付加領域を有しており、この領域が同じファミリーの2量体酵素のN末ドメインと類似の構造を有していた。そして、LpSOGP では活性部位が同じサブユニットのN末付加領域のドメインと触媒ドメインの界面に存在していた。

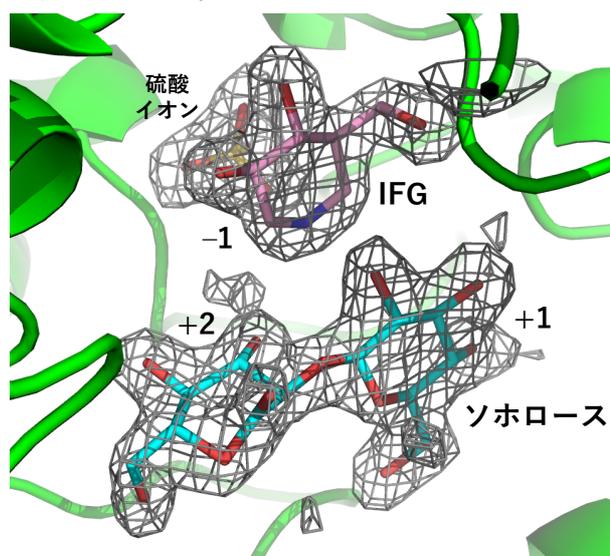


図1 : LpSOGP とソホロース、グルコースアナログ (イソファゴミン)、硫酸イオンとの複合体構造

野生型酵素の結晶を作製し、ソホロース、グルコースアナログ（イソファゴミン、IFG）、硫酸アンモニウム（リン酸のアナログとして）をソーキングしたところ、サブサイト-1 の IFG、サブサイト+1、+2 のソホロースと硫酸イオンの明確な電子密度が観察された（図1）。IFG に対するサブサイト+1のグルコース部分の向きはソホロースの安定とされる構造と比べて反転しており、サブサイト-1、+1への2糖の結合には不利であることが示唆された。一方、サブサイト+1、+2に結合したソホロースの構造は安定とされる構造に近かった。このことから、サブサイト+2における基質認識が3糖以上 $\beta$ -1,2-グルコオリゴ糖の加リン酸分解反応を可能にしていることが示唆された。

#### 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.*, *Sci rep* **7**, 42671 (2017).

#### 成果

##### 1. 学会発表

小堤悠生、古川那由太、田中信清、宮永顕正、  
伏信進矢、中井博之、中島将博、田口速男  
日本農芸化学会 2016 年度大会  
*Clostridium phytofermentans* 由来 1,2- $\beta$ -オリゴ  
グルカンホスホリラーゼの機能構造解析

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