

# ビフィズス菌の $\beta$ ヘリックス型ヒトミルクオリゴ糖分解酵素の全体構造解明と専用シャペロンによる成熟化機構

## Elucidation of whole structure of bifidobacterial $\beta$ -helix type human milk oligosaccharide-degrading enzyme and its maturation mechanism

山田千早<sup>1,2</sup>, 荒川孝俊<sup>1</sup>, 伏信進矢<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>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

<sup>2</sup>京都大学大学院生命科学研究科、〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町

Chihaya YAMADA<sup>1,2</sup>, Takatoshi ARAKAWA<sup>1</sup>, and Shinya FUSHINOBU<sup>1,3</sup>

<sup>3</sup>Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

<sup>4</sup>Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Kitashirakawa Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8052, 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 (LNBbase) である。これまで知られている *Bifidobacterium bifidum* 由来の LNBbase 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 LNBbase (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。LnbX の触媒ドメインは $\beta$ ヘリックスフォールドを取っており、TIM バレルフォールドを持つ GH20 ファミリーの LNBbase とは全く異なる立体構造であった (図)。

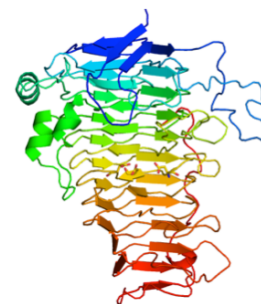


図 : LnbX の立体構造

### 4 まとめ

LnbX の立体構造決定に成功し、新規ファミリー GH136 が与えられた。また、本成果は 2017 年度中に、査読付き論文および 2 本の総説として発表した (成果欄を参照)。現在、LnbY 単独および LnbX と LnbY の複合体の結晶化を行っている。

### 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、後藤愛那博士、片山高嶺先生をはじめとする共同研究者のみなさんに感謝いたします。

### 参考文献

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

### 成果

1. Yamada *et al.*, *Cell Chem. Biol.* **24**, 515-524, 2017
2. 山田千早、片山高嶺、Mitchell Hattie, Keith A. Stubbs, 荒川孝俊、伏信進矢「新規ファミリーに属するビフィズス菌由来ラクト-N-ビオシダーゼの立体構造」*応用糖質科学* **7** (2), 63-68 (2017)

3. 後藤愛那、片山高嶺、山田千早、伏信進矢、櫻間晴子「ラクト-N-ビオシダーゼ (LnbX) の機能から考える母乳オリゴ糖を介したビフィズス菌と母乳栄養児の共生・共進化」*酵素工学ニュース* **78**, 23-28 (2017)

\* [asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp](mailto:asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)