

# 強力な糖転移活性を示す $\alpha$ -グルコシダーゼ FjDex31A の立体構造 Structure of FjDex31A, an $\alpha$ -glucosidase with strong transglucosylation activity

殿塚隆史\*, 堤賢太, 郷津佳史, 西河淳

東京農工大学大学院農学府, 〒183-8509 府中市幸町 3-5-8

Takashi Tonozuka\*, Kenta Tsutsumi, Yoshifumi Gozu, Atsushi Nishikawa

Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8 Saiwai-cho, Fuchu 183-8509, Japan

## 1 はじめに

オリゴ糖は、整腸作用や免疫力向上などさまざまな機能が報告されており、人の健康の維持・増進に有用であることからさまざまなオリゴ糖生産酵素の取得が囑望されている。我々は  $\alpha$ -グルコシダーゼが主要な酵素として属する酵素ファミリーである、糖質加水分解酵素ファミリー (GH) 31 から、オリゴ糖を生成する酵素の探索を行った。  $\alpha$ -グルコシダーゼは、マルトオリゴ糖などのグルコースから構成される糖を加水分解する酵素の総称であるが、加水分解活性ばかりでなく糖転移活性を有する酵素が多数存在することが報告されている。探索の結果、細菌 *Flavobacterium johnsoniae* より、グルコースが  $\alpha$ -1,6-結合で重合した糖に作用し糖転移活性を示す酵素を見出し、FjDex31A と命名した。

FjDex31A は、グルコースが  $\alpha$ -1,6-結合で重合した多糖であるデキストランに作用する酵素であり、これは GH31 において初めての報告である。また、二糖イソマルトースに対しては糖転移活性を示し、イソマルトオリゴ糖を生成する [1]。本研究では、FjDex31A の立体構造を決定したので、報告する。

## 2 実験

FjDex31A の生産および精製は、我々が既に報告した方法によった [1]。結晶化は、リザーバーとして 100 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 pH5、8%(w/v) ポリエチレングリコール 20000、8% 2-メチル-2,4-ペンタンジオールを用いたハンギングドロップ蒸気拡散法により行った。位相の決定は、上記リザーバーに 0.1 mM 塩化水銀(II)を加えた溶液に 1 時間浸した結晶について、X線回折強度データを収集し、SAD 法により決定した。グルコースとの複合体は、上記リザーバーに 100 mM グルコースを加えた条件で結晶化を行った。X線回折強度データは、高エネルギー加速器研究機構 PF BL-5A (リガンドなし酵素) および AR-NW12A (グルコースとの複合体) の各ビームラインで収集した。決定した構造は、それぞれ 6JR6 および 6JR7 として、Protein Data Bank に登録した。

## 3 結果および考察

FjDex31A のリガンドなしの構造 (図 1A) を 2.0-Å 分解能で、グルコースとの複合体の構造を 1.75-Å

分解能で決定した。FjDex31A は N 末ドメイン (図 1A の水色)、触媒ドメイン (黄)、Proximal C 末ドメイン (緑)、Distal C 末ドメイン (紫) から成り、これは他の GH31 と同様のドメイン構成であった。グルコースとの複合体の構造では、サブサイト-2 と-1 の両方にグルコースが観察され、イソマルトースとしてモデルが構築されることが分かった (図 1B)。FjDex31A は、グルコースからイソマルトースを生成させる活性はなく、マイナスサブサイトはイソマルトース単位との親和性が高いことが示された。

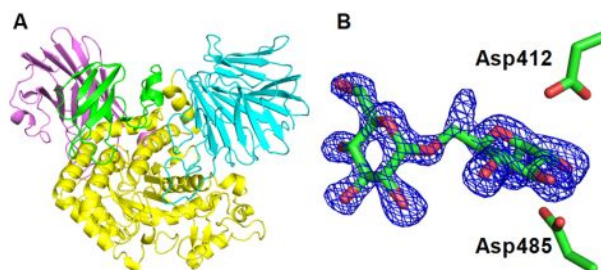


図 1 : (A) FjDex31A の全体構造、各ドメインを異なる色で表示した。(B) 活性中心に結合したグルコース、電子密度は  $|F_o| - |F_c|$  3  $\sigma$  で表示した。触媒残基の Asp412 と Asp485 を示した。

## 4 まとめ

本研究では、FjDex31A の立体構造を決定した。グルコースとの共結晶では、グルコース二分子がサブサイト-1 および-2 に存在することが分かった。多くの GH31 ではサブサイト-2 に相当する部位は存在せず、本酵素のデキストラン分解およびイソマルトオリゴ糖生成に関する性質を分子レベルで明らかにすることができた。

## 参考文献

[1] Gozu *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **80**, 1562 (2016).

\* tonozuka@cc.tuat.ac.jp