

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

中島将博<sup>1\*</sup>, 田中信清<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>, Nobukiyo Tanaka<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-グルカンは主に環状糖として天然に存在している希少な多糖である。しかし、その希少性ゆえに  $\beta$ -1,2-グルカンに作用する酵素の解析は困難であった。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発見し[1]、これを用いた  $\beta$ -1,2-グルカン、 $\beta$ -1,2-グルコオリゴ糖の調製が容易になり、 $\beta$ -1,2-グルカン関連酵素群の機能構造解析が可能となった。本研究では  $\beta$ -1,2-グルコトリオース以上を好む *Bacteroides thetaiotaomicron* 由来  $\beta$ -グルコシダーゼ (BtBGL) の構造的要因を明らかにすることを目的とした。

### 2 実験

BtBGL の触媒残基変異体の結晶化を行った[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。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

$\beta$ -1,2-グルコトリオースと触媒残基変異体(D286N)との複合体構造を分解能 2.0 Å にて決定した[2]。その結果、基質は生産的な結合様式を示したものの、サブサイト+2 の電子密度は弱く、水素結合は Asp110 と Asn81 のみであった。しかし、Asn81 はソホロース ( $\beta$ -1,2-グルコビオース) を基質として好む *Listeria innocua* 由来  $\beta$ -グルコシダーゼ(Lin1840)ではグリシン残基に置換されている[3]ことから、Asn81 が 3 糖以上を好む鎖長特異性に重要な残基であることが示唆された。

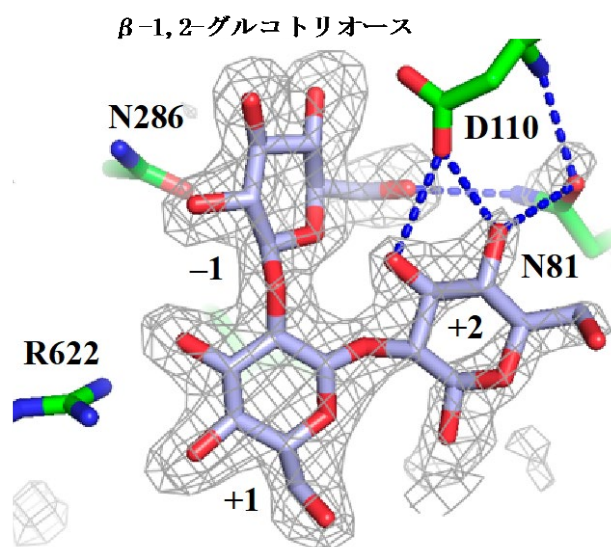


図 1 : BtBGL の触媒残基変異体 D286N と  $\beta$ -1,2-グルコトリオースとの複合体構造

### 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] R. Ishiguro *et al.*, *FEBS Lett* **591**, 3926 (2017).  
[3] M. Nakajima *et al.*, *PLOS ONE* **11**, e0148870 (2016).

### 成果

#### 1. 学会発表

中島将博, 宮永顕正, 前田拓磨, 中井博之, 田口速男  
*Bacteroides thetaiotaomicron* 由来  $\beta$ -グルコシダーゼ  
の機能構造解析  
日本応用糖質科学会平成 27 年度大会

2. 学会発表

中島将博、石黒陸斗、前田拓磨、田中信清、宮永  
顕正、中井博之、田口速男

*Bacteroides thetaiotaomicron* 由来  $\beta$ -グルコシダーゼ  
の基質複合体の構造

日本応用糖質科学会平成 28 年度大会

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