

霊長類腸内細菌の宿主糖鎖加水分解酵素の構造解析

Structural analysis of hydrolytic enzymes for degradation of host-derived glycans

山田千早^{1,2}, 荒川孝俊^{1,2}, 伏信進矢^{1,2*}¹ 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 1-1-1Chihaya YAMADA^{1,2}, Takatoshi ARAKAWA¹, and Shinya FUSHINOBU^{1,*}¹Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan²Collaborative Research Institute for Innovative Microbiology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

我々はビフィズス菌を主な対象として、ヒトの母乳に含まれるオリゴ糖(ヒトミルクオリゴ糖, HMO)の代謝系、特に HMO の多くに存在するコア構造であるラクト-N-ビオース(LNB; Gal- β 1,3-GlcNAc)を代謝する酵素群の構造生物学的研究を行ってきた。興味深いことに *Bifidobacterium bifidum* は糖質加水分解酵素(GH)ファミリー20(GH20)に属する LNB 分解酵素(LNBBase)である LnbB を持つのに対し、*Bifidobacterium longum* では GH136 に属する LNBBase である LnbX を持つ。我々はその両方で立体構造を報告している[1,2]。

LNB を多く含む母乳を作るのはヒトのみであり、LNB が母乳に少量含まれることが確認されている生物は一部の霊長類に限られ、その他全ての哺乳動物の母乳にはLNBは含まれないことが分かっている。しかし、我々はいくつかの微生物から GH136 LnbX のホモログを発見しており、それらの立体構造解析に着手した。さらに、近年、京都大学のグループにより発見された、ヒト腸管の糖タンパク質(ムチン)の硫酸化された糖を切断する GH20 スルフォグリコシダーゼ BbhII も研究対象とした[3]。

2 実験

Roseburia 属に代表される酪酸を生産するクロストリジウム綱の細菌は、離乳期の幼児の腸内で増加し、ヒトの健康に寄与することが知られている[4]。我々は、*Roseburia* 属の近縁種である *Eubacterium ramulus* 由来の GH136 LnbX ホモログ(ErLnb136)の立体構造決定を行った。さらに、霊長類の1種であるアカテタマリンの由来ビフィズス菌 *Bifidobacterium saguini* の LnbX ホモログ(BsaXc)、ヒト成人腸内細菌である *Tyzzerella nexilis* の LnbX ホモログ(TnXc)も立体構造決定を行った。これらはいずれも触媒ドメインのみからなる。一方、GH20 BbhII も結晶化を行い、データ測定を行った。

3 結果および考察

ErLnb136 の結晶構造決定に成功した(図1)。Native 構造と SeMet-構造はそれぞれ分解能 2.0 Å と 1.4 Å で決定された。ErLnb136 の構造には、GH136 LnbX ホモログが一般的に持つシャペロン様のドメインが含まれていた。このドメインは β -ヘリックスの触媒ドメインを覆うように存在しており、この酵素がフォールディングするのを助けていると思われる。

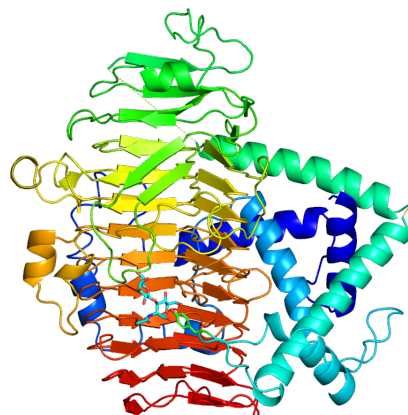


図1: ErLnb136 の立体構造

BsaXc と TnXc も立体構造決定に成功している(図2)。本研究結果については、2021年度日本農芸化学会大会で発表した(成果を参照)。

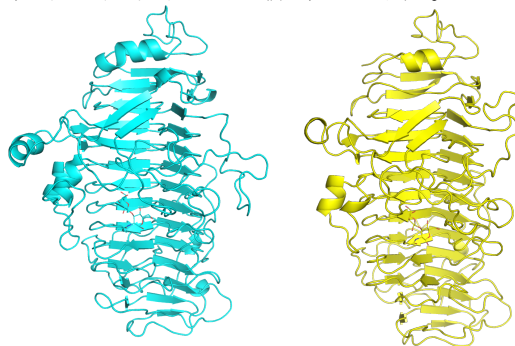


図2: BsaXc (左) と TnXc (右) の立体構造

BbhII も結晶構造決定に成功した(図3)。SeMetタンパク質に基質の一部 GlcNAc-6S が結合した状態で 1.9 Å 分解能の構造を得ている。BbhII は N 末端と C 末端に β -サンドイッチドメインが存在していた。さらに、N 末端の β -サンドイッチドメインには GlcNAc-6S が結合しており、これが糖質結合モジュール(CBM)としてはたらくことが明らかになった。

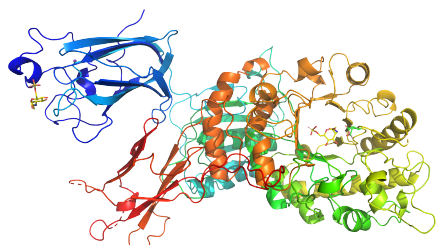


図3 : BbhII の立体構造

4 まとめ

ErLnb136 と BbhII の結晶構造決定に成功した。ErLnb136 ではシャペロン様ドメインが、BbhII では新規 CBM の立体構造が明らかになり、これらの酵素の機能に関して新たな知見が得られた。ErLnb136 の立体構造を含む論文は *Nature Communications* 誌に掲載された[5]。BsaXc、TnXc、BbhII の投稿論文も現在準備中である。

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、そして、デンマーク工科大学と京都大学の皆様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.*, *J. Biol. Chem.* **288**, 11795 (2013)
- [2] Yamada *et al.*, *Cell Chem. Biol.* **24**, 515 (2017)
- [3] Katoh *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **81**, 2018 (2017)
- [4] La Rosa *et al.*, *Nat. Comm.* **10**, 905 (2019)
- [5] Pichler, Yamada, *et al.*, *Nat. Comm.* **11**, 3285 (2020)

成果

1. 2021 年度農芸化学会大会 (仙台) 一般講演 2C01-12 「GH136 に属するラクト-N-ビオシダーゼホモログの結晶構造解析」山田千早、片山高嶺、伏信進矢

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