

新規な β -1,2-グルコシルトランスフェラーゼの立体構造解析 Structural analysis of a novel β -1,2-glucosyltransferase

小林海渡¹, 中島将博¹, 田口速男¹

¹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

Kaito KOBAYASHI¹, Masahiro NAKAJIMA^{1,*} and Hayao TAGUCHI¹

¹ Tokyo University of Science,

2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan

1 はじめに

β -1,2-グルカンは主に環状糖として天然に存在する多糖である。近年までこの糖鎖に作用する分解酵素はほとんど報告がなかった。しかし、2014年に β -1,2-グルカンを合成可能な糖質加リン酸分解酵素が発見され[1]、その後 β -1,2-グルカナーゼの遺伝子同定も行われた[2]。これにより、この両酵素をコードする遺伝子の周辺に存在する遺伝子クラスターの探索が可能となった。温泉より単離された *Ignavibacterium album* の β -1,2-グルカナーゼ遺伝子の遺伝子クラスターには glycoside hydrolase family 35 に属する遺伝子が存在しており、私たちはこの遺伝子のコードする酵素 (IaSGT) が β -1,2-グルコオリゴ糖に対するグルコシド転移活性を示す新規酵素であることを見出している。本研究ではこの酵素の新規構造を決定し、機能構造相関を明らかにしている。

2 実験

IaSGT は分子置換法の適用可能な構造既知ホモログが存在していなかったため、セレノメチオン置換体を用いた初期位相決定を行った。また、野生型酵素、求核触媒残基の変異体に対して β -1,2-グルコオリゴ糖やグルコースなどの基質、基質アナログのソーキングを行い、リガンドとの複合体構造の取得を行った。得られた全ての結晶は、KEK-PF の構造生物学ビームラインにおいて回折データを取得し、位相決定及び解析を行った。

3 結果および考察

IaSGT のセレノメチオン置換体結晶より本酵素の位相を決定した。また、分解能 1.75 Å にて IaSGT のアポ構造を決定し、ソホロースなどとの複合体構造も決定した。

本酵素は3個のドメインからなり、2量体構造をとっており、全体構造は同じファミリーのグルコサミニダーゼと類似していた。しかし、基質認識残基は全く異なっており、サブサイト+1はソーキングに使用したどのグルコシドの場合の複合体構造でもグルコースが観察された。このグルコースは周辺の残基に多数の水素結合で認識されていたことから、グ

ルコース部分がアクセプターとして重要であることが示唆された。また、この酵素は様々な種類のグルコシド配糖体もアクセプターとするが、アグリコン部分を収容する疎水的なポケットが存在することがその要因であった。この新規酵素の新規活性と立体構造の相関については *Journal of Biological Chemistry* 誌に掲載された[3]。

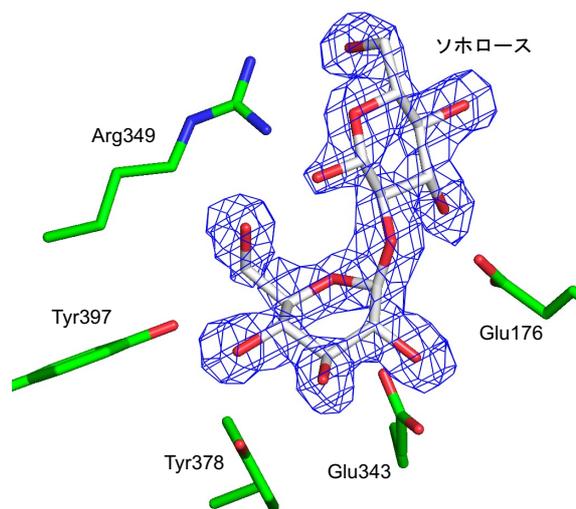


図1 : IaSGT とソホロースとの複合体構造

参考文献

- [1] M. Nakajima *et al.*, PLOS ONE **9**, e92353 (2014).
[2] K. Abe *et al.*, *J Biol Chem* **292**, 7487-7506 (2017).
[3] K. Kobayashi *et al.*, *J Biol Chem* **298**, 101606 (2022).

成果

1. 論文

K. Kobayashi, H. Shimizu, N. Tanaka, K. Kuramochi, H. Nakai, M. Nakajima, H. Taguchi

Characterization and structural analyses of a novel glycosyltransferase acting on the β -1,2-glucosidic linkages *Journal of Biological Chemistry*, **298** (3) 101606,

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