

細菌の D-フルクトース/D-アラビノース含有糖質分解酵素の結晶構造解析 Crystallography of novel bacterial degradation enzymes for polysaccharides containing D-fructose and D-arabinose

福島陸¹, 赤井元気¹, 鹿島騰真^{1,2}, 山田千早^{1,3}, 荒川孝俊^{1,4}, 伏信進矢^{1*}

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 1-1-1

² 京都大学大学院生命科学研究科、〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

³ 明治大学農学部農芸化学科、〒214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1

⁴ 東京理科大学薬学部、〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

Riku FUKUSHIMA¹, Genki AKAI¹, Toma Kashima^{1,2}, Chihaya YAMADA^{1,3}, Takatoshi ARAKAWA^{1,4}, and Shinya FUSHINOBU^{1*}

¹Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan; ²Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Yoshida-Konocho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan; ³Department of Agricultural Chemistry, School of Agriculture, Meiji University, 1-1-1 Higashi-Mita, Tama-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa; ⁴Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science, 214-8571, Japan; 2641 Yamazaki, Noda, Chiba

1 はじめに

我々は口腔内ビフィズス菌より新規酵素 α FFaseI を発見し、 α -D-フルクトフラノシダーゼと α -D-アラビノフラノシダーゼ活性を発見した[1]。植物が大量に作り自然界にあふれている α -L-アラビノフラノースに対して、その鏡像体である α -D-アラビノフラノースはごく一部の生物（主に細菌）のみが作る。その多糖 D-アラビナンは結核菌・らい菌など重要な病原菌の菌体外多糖（リポアラビノマンナン）の主要構成領域である。D-アラビナンの分解酵素はこれまでほとんど研究が進んでいなかったが、我々は D-アラビナン分解酵素群を土壌細菌より発見した。本研究ではエンド型 α -D-アラビノフラノシダーゼ EndoMA1、エキソ型 α -D-アラビノフラノシダーゼ ExoMA1、エキソ型 β -D-アラビノフラノシダーゼ ExoMA2 を研究対象とした。

2 実験

各サンプルで結晶化を行い、KEK-PF の構造生物学ビームラインで X 線回折データ測定を行った。ExoMA1 は KEK 構造生物学研究センターのクライオ電子顕微鏡施設でデータ測定を行った。EndoMA1 については溶液中のオリゴマー状態を明らかにするために、SEC-MALS/RI 測定を行い、BL-10C で SEC-SAXS 測定を行った。

3 結果および考察

ExoMA2 で、 β -D-アラビノフラノースとの複合体として分解能 1.35 Å の結晶構造を決定した（図 1 左）。ExoMA1 のクライオ電子顕微鏡構造解析は、現在グリッド条件を検討中である。EndoMA1 は SEC-MALS/RI および SEC-SAXS 測定より、溶液中で

二量体として存在することがわかった（図 1 右）。これまでの研究と合わせて、新規な D-アラビナン分解酵素群の構造機能解析をほぼ完了したので、現在論文投稿中である。既にプレプリントを公開している[2]。

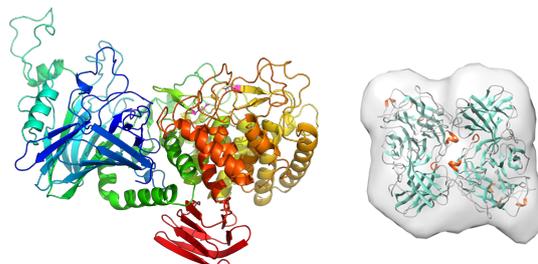


図 1 : ExoMA2 の立体構造（左）と EndoMA1 の SAXS 測定によるビーズモデル（右）

謝辞

SEC-MALS/RI および SEC-SAXS 測定は KEK の清水伸隆教授のご指導のもとで行いました。クライオ電子顕微鏡測定および SEC-SAXS 測定は AMED-BINDS によるサポートをいただきました。実験をサポートして下さった KEK および PF の皆様に感謝いたします。

参考文献

- [1] Kashima *et al.*, *J. Biol. Chem.* **297**, 101324 (2021).
- [2] Shimokawa *et al.*, *Research Square* (2023) doi: 10.21203/rs.3.rs-2624731/v1.

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