

BL-1A, BL-5A, BL-10C, BL-17A, AR-NE3A, AR-NW12A/2022G034

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, 赤井元気, 鹿島騰真, 宮永顕正, 伏信進矢*

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

Riku FUKUSHIMA, Genki AKAI, Toma KASHIMA, Akimasa MIYANAGA, and Shinya FUSHINOBU*

Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

我々は口腔内ビフィズス菌より新規酵素 α FFase1 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。ExoMA2 は基質との複合体データの取得を目指した。

3 結果および考察

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。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）。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。ExoMA2 では 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。ここまでの研究成果を、エキソ型 α -D-アラビノフラノシダーゼ ExoMA1 の研究成果も加え、まとめて *Nat. Commun.* 誌に掲載した[2]。その後さらに、 β -1,2-結合した

D-アラビノース 2 糖の分解能 1.86 Å の複合体構造（図 2）および D-アラビナンの部分構造の 7 糖との分解糖 1.97 Å の複合体構造の取得に成功した[3]。

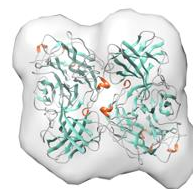


図 1 : EndoMA1 の SAXS 測定によるビーズモデル

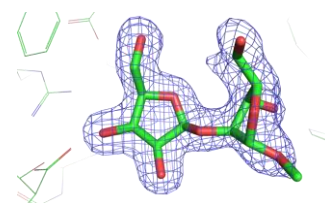


図 2 : ExoMA2 に結合した D-アラビノース 2 糖

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.*, *Nat. Commun* **14**, 5803 (2023).
- [3] 福島ら、日本応用糖質科学会大会(沖縄)、ポスターおよび口頭発表 (2023).

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