

# 大腸菌由来 $\beta$ -1,2-グルカナーゼ、OpgD と OpgG の立体構造解析 Structural Analysis of $\beta$ -1,2-Glucanases, OpgD and OpgG, from *Escherichia coli*

元内省<sup>1</sup>, 中島将博<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>東京理科大学 創域理工学部 生命生物科学科  
〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

Sei MOTOUCHI<sup>1</sup> and Masahiro NAKAJIMA<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Tokyo University of Science, Faculty of Science and Technology,  
Department of Applied Biological Science  
2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan

## 1 はじめに

Osmoregulated periplasmic glucans (OPG)はさまざまなグラム陰性菌がエンベロープの構成成分としてペリプラズムに合成する多糖であり、病原因子や共生因子としてなどの重要な生理的役割が報告されている。本研究では OPG の中でも大腸菌が生産する  $\beta$ -1,2-グルコオリゴ糖を主鎖とし、 $\beta$ -1,6-グルコース側鎖をもつ OPG に着目した。この OPG は OpgH により  $\beta$ -1,2-グルカン主鎖が合成されることが知られているが[1]、そこから先に OPG への変換については OpgG と OpgD をコードする遺伝子が関与していることが遺伝学的に調べられているのみで、生化学的な証拠は皆無であった。そこで、大腸菌由来 OpgG と OpgD の酵素学的性質を調べたところ、これらは  $\beta$ -1,2-グルカナーゼ(SGL)であることが判明した[2]。また、OpgD は十分な酵素反応速度を示すのに対し、OpgG は極めて低い反応速度しか示さないことも明らかになった[2]。そこで、本研究では OpgG と OpgD において  $\beta$ -1,2-グルカンとの複合体構造を取得し、機能構造相関を明らかにした。

## 2 実験

OpgG についてはすでにリガンドフリー構造が得られていたため、これを分子置換法のモデルとして使用して初期位相の決定を行うことにより、OpgD と OpgG の触媒残基変異体（それぞれ OpgDm, OpgGm）について  $\beta$ -1,2-グルカンとの複合体構造を取得した。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

OpgDm および OpgGm と  $\beta$ -1,2-グルカンとの共結晶による複合体構造をそれぞれ 2.06 Å、1.81 Å の分解能で得た。前者の構造から、OpgD においては水分子が 3 個と基質のヒドロキシ基を介してプロトンリレーが生じるこれまでの糖質加水分解酵素では先例のないユニークな反応機構を有することが明らか

かとなった(図 1)。また、この反応経路(プロトンリレー経路)は基質と OpgD のタンパク質部分により溶媒から隔離されており、これにより OpgD において効率的に酵素反応が生じることが示された。

一方、OpgGm と  $\beta$ -1,2-グルカンとの複合体の場合、基質の結合様式はほぼ保存されていたものの、OpgDm の場合に見られた求核水の電子密度は非常に弱かった。また、プロトンリレー経路の溶媒からの隔離は不完全であった。これらの2つの要素により、OpgG は OpgD と異なり極めて低い分解反応速度しか示さないと考えられる。

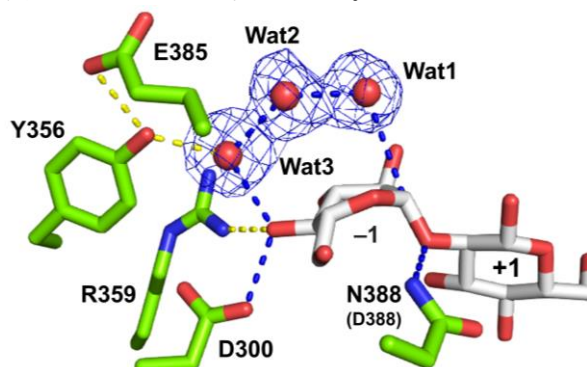


図 1 : OpgDm と  $\beta$ -1,2-グルカンとの複合体構造。

## 謝辞

本成果は多くの方々のご協力によるものです。ここに感謝致します。

## 参考文献

- [1] S. Bontemps-Gallo *et al.*, *EcoSal Plus* **7**, 1-17 (2017).  
[2] S. Motouchi, M. Nakajima *et al.*, *Comm. Biol.* **6**, 961 (2023).

## 成果

1. 学術論文  
Identification of enzymatic functions of osmo-regulated periplasmic glucan biosynthesis

proteins from *Escherichia coli* reveals a novel glycoside hydrolase family

Sei Motouchi, Kaito Kobayashi, Hiroyuki Nakai, Masahiro Nakajima

*Communications Biology*, 6 (1) Article number 961, 2023

2. ポスター賞受賞

日本応用糖質科学会 2022 年度 (第 71 回) 大会  
ペリプラズム糖鎖合成に関わる大腸菌由来  
OpgD の機能構造解析:新規 GH ファミリーの発見

元内省, 中井博之, 中島将博

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