

酪酸産生腸内細菌のグリコーゲン分枝酵素と相同性を有する  
機能未知酵素の立体構造解析

Structural analysis of an uncharacterized enzyme homologous to glycogen-branching  
enzymes from a butyrate-producing gut bacterium

殿塚隆史\*, Ding Yifu

東京農工大学大学院農学府, 〒183-8509 府中市幸町 3-5-8

Takashi Tonozuka\*, Yifu Ding

Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8 Saiwai-cho, Fuchu 183-8509, Japan

## 1 はじめに

*Faecalibacterium duncaniae* (旧名 *Faecalibacterium prausnitzii* A2-165) は酪酸産生腸内細菌の一種で、有用腸内細菌として同定されている。本菌は難消化性澱粉の摂取により増殖が促進されることが報告されている。多くの細菌は分枝酵素 (Branching enzyme、以下 BE) の遺伝子を1つしか持たないが、*F. duncaniae* のゲノム中には、2つの BE の遺伝子が存在する。我々は2つの BE のうち、既知の BE と低い相同性を示す酵素 (FdGH13\_9-B) の糖代謝における役割に興味を持ち、立体構造を解析した。

## 2 実験

FdGH13\_9-B の DNA を PCR で増幅してプラスミド pET28a(+)に組み込み、大腸菌による発現系を構築した。酵素の精製は Ni-NTA アガロースを用いたアフィニティークロマトグラフィーによって行い、結晶化した。リガンドとしてマルトヘキサオースを含んだ溶液に結晶をソーキングし、X 線回折データを収集し立体構造を決定した。

## 3 結果および考察

FdGH13\_9-B は糖質結合モジュール CBM48 (図1青)、および糖質加水分解酵素ファミリーGH13 に共通して見られるドメイン A (緑)、B (オレンジ)、C (ピンク) より構成され、これは他の BE と同様である。すでに構造が明らかになっているシアノバクテリアの BE1 (cceBE1) [1] と比べ、FdGH13\_9-B は cceBE1 に見られるドメイン N は存在しない。

触媒ドメインの  $(\beta/\alpha)_8$  バレルは  $\beta$  ストランドと  $\alpha$  ヘリックスが交互に出現し、N 末端側から  $\beta 1$ - $\alpha 1$ - $\beta 2$ - $\alpha 2$  -...- $\beta 8$ - $\alpha 8$  という構造から成っている。 $\beta 1$  と  $\alpha 1$  の間に存在するループは Loop 1 (図1赤) と称し、BE の分枝鎖の長さを決定するストッパー構造であることが報告されている。FdGH13\_9-B の Loop 1 はすでに立体構造が報告されている cceBE1 や大腸菌の BE とは相同性が認められず、特徴的な構造であった。本酵素が生成する分枝鎖は他の多くの BE とは異なり、DP (グルコースの重合度) 7 が最も多い。

マルトヘキサオースのソーキングの結果、糖は活性中心のクレフトには観察されなかったが、 $\beta 8$  と  $\alpha 8$  の間にあるループにマルトヘキサオースが、ドメイン C にマルトテトラオース (ともに図1赤) が結合していた。 $\beta 8$  と  $\alpha 8$  の間にあるループへの糖の結合は他の BE では報告されていない。

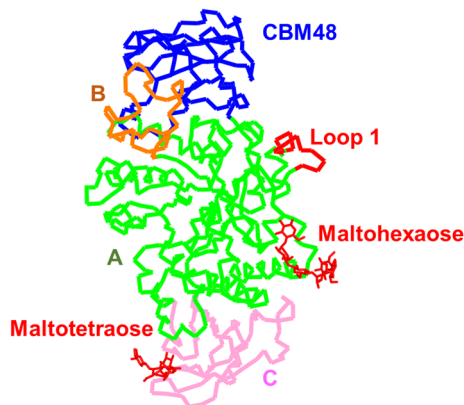


図1 : FdGH13\_9-B の立体構造

## 4 まとめ

酪酸産生腸内細菌 *F. duncaniae* の酵素 FdGH13\_9-B の立体構造を決定した。その結果、Loop 1 が他の BE と異なる構造であり、また他の BE と異なる部位に糖が結合していた。本研究により、FdGH13\_9-B は構造および性質とも特徴的な酵素であることを明らかにした。

## 謝辞

本酵素の発現系構築については遠藤明仁先生 (東京農業大学)、分枝鎖長の解析は鈴木龍一郎先生 (秋田県立大学) にお世話になりました。ここにお礼申し上げます。

## 参考文献

[1] M. Hayashi *et al.*, *J. Biol. Chem.* **292**, 5465 (2017).

\* tonozuka@cc.tuat.ac.jp