

ビフィズス菌が独自に獲得した腸管粘膜のムチン糖鎖代謝関連酵素に 付随するドメインの構造解析

Structural analysis of enzyme domains associated with mucin metabolism in the intestinal mucosa, uniquely acquired by bifidobacteria

張 欣哲, 宮永 顕正, 伏信 進矢, 鹿島 騰真*

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

Xinzhe ZHANG, Akimasa MIYANAGA, Shinya FUSHINOBU and Toma KASHIMA*

Graduate school of agricultural and life sciences, the University of Tokyo, Yayoi 1-1-1, Bunkyo-ku,
Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

ビフィズス菌は固有のヒトムチン代謝系を有しており、それを構成する糖質関連酵素や付随するドメインには、分子基盤の詳細が解らないものが存在する[1, 2]。本研究では、未だ分子機能が明らかになっていない乳児型ビフィズス菌 *Bifidobacterium bifidum* JCM 1254 株に固有な、lacto-*N*-biose I (LNB) やその誘導物質を特異的に認識する 2 つの糖質結合モジュール (carbohydrate-binding module) BbLnbX-CBMX1 および BbLnbB-CBM32 のリガンドとの複合体結晶構造解析を行なった。

2 実験

JCM 1254 株のゲノム配列より目的の CBM にあたる遺伝子配列をクローニング、大腸菌にて異種発現し、タンパク質を精製して、結晶化を行なった。KEK-PF および PF-AR の構造生物学ビームラインを利用して X 線回折実験を行った。得られた回折データは CCP4 および Phenix などのタンパク質結晶構造解析ソフトウェアを用いて構造決定した。

また、リガンドとの結合様式を明らかにするべく、様々なリガンド (後述) と共結晶化し、複合体構造を取得した。

3 結果および考察

BbLnbX-CBMX1 について、リガンドフリー、LNB 複合体、galacto-*N*-biose 複合体、そして galactose 複合体構造をそれぞれ 1.85 Å、2.12 Å、2.43 Å、1.54 Å で決定した (図 A)。

BbLnbB-CBM32 について、リガンドフリーおよび LNB 複合体構造をそれぞれ 1.97 Å、2.00 Å で決定した (図 B)。

4 まとめ

本研究により BbLnbX-CBMX1 および BbLnbB-CBM32 のリガンドの認識様式や特異性に関わる重要残基を明らかにすることができた。これまで LNB を特異的に認識する CBM の報告は我々の知る限り存在せず、したがって本研究で扱っている CBM の

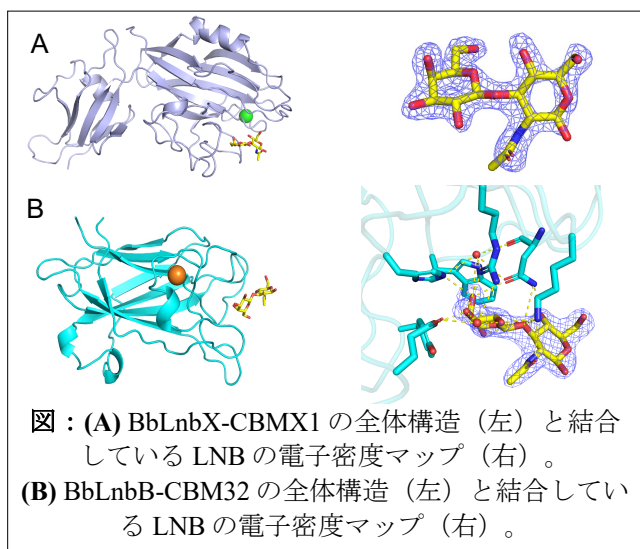


図 : (A) BbLnbX-CBMX1 の全体構造 (左) と結合している LNB の電子密度マップ (右)。

(B) BbLnbB-CBM32 の全体構造 (左) と結合している LNB の電子密度マップ (右)。

新規性が示唆された。近い将来、これらの成果を原著論文として学術誌に投稿する予定である。

また、引き続き分子機能が未解明な CBM や、ムチン代謝に関わるビフィズス菌タンパク質の構造解析に取り組む予定である。

謝辞

タンパク質結晶の回折実験を進めるにあたって KEK および PF の皆様にサポートして頂きました。また、実験結果の考察において京都大学の片山 高嶺教授、加藤 紀彦 准教授、東京大学の五十嵐 圭日子教授、砂川 直輝 講師より多くの助言を頂きました。この場を借りて深く感謝申し上げます。

参考文献

- [1] T. Katoh *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **19**, 778-789 (2023).
- [2] S. Fushinobu, *Biosci. Biotech. & Biochem.*, **74**, 2374-2384 (2010).

* a-kashimatoma@g.ecc.u-tokyo.ac.jp