

Microbacterium saccharophilum 由来 β -フルクトフラノシダーゼの結晶構造 Crystal structure of *Microbacterium saccharophilum* β -fructofuranosidase

殿塚隆史^{1,*}, 玉城彰子¹, 横井岳¹, 宮崎剛亜¹, 市川めぐみ¹, 西河淳¹

¹東京農工大学大学院農学府, 〒183-8509 府中市幸町 3-5-8

Takashi Tonozuka^{1,*}, Akiko Tamaki¹, Gaku Yokoi¹, Takatsugi Miyazaki¹, Megumi Ichikawa¹ and Atsushi Nishikawa¹

¹Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8 Saiwai-cho, Fuchu 183-8509, Japan

1 はじめに

β -フルクトフラノシダーゼ (EC3.2.1.26) はスクロースを加水分解しグルコースとフルクトースを生成する酵素であるが、本酵素の中には糖転移反応によるオリゴ糖生成能を有している酵素がある。*Microbacterium saccharophilum* (以前 *Arthrobacter* sp. K-1 株と呼ばれていた) の生産する β -フルクトフラノシダーゼ (以下 MsFFase) は、ラクトースとスクロースの混合物を基質として、ラクトスクロースと呼ばれるオリゴ糖を生成する特徴的な性質を有する。MsFFase の一次構造は、レバンと称する多糖を生成させる酵素であるレバンスクララーゼと類似しているが、MsFFase はスクロースのみが基質の際は、レバン生成量はわずかでスクロースの加水分解活性が顕著である。このような MsFFase の性質はどのようにして発揮されるのか明らかにするため、X 線結晶構造解析により立体構造を決定した [1]。

2 実験

今回、全長 578 アミノ酸残基のうち、N 末端側のシグナル配列および C 末端側を除いた、アミノ酸残基 37 から 532 番目から構成される触媒ドメインの構造を決定した。構造決定は *Bacillus subtilis* のレバンスクララーゼを鋳型とした分子置換法による。

3 結果および考察

MsFFase の構造を図 1 に示した。MsFFase は糖質加水分解酵素ファミリー 68 (GH68) に属する酵素である。MsFFase は他の GH68 酵素と同様、5 枚羽の β -プロペラフォールドから成る構造をしていた。相同性を有する立体構造を Dali サーバーで検索したところ、最も類似しているタンパク質は *Gluconacetobacter diazotrophicus* 由来レバンスクララーゼ (以下 GdLev) であった。

次に、MsFFase とフルクトースとの複合体との構造を決定した。MsFFase の β -プロペラフォールドの中心には 1 つのフルクトース残基が存在していた。このフルクトース残基は、12 アミノ酸残基との相互作用が確認され、活性中心のサブサイトー1 に強固に結合しているものと考えられた。

MsFFase の全体的な立体構造は GdLev とよく似ているが、最も特徴的な構造は活性中心を形成するクレフトの底に存在するトンネルである。このトンネルがオリゴ糖生成活性と関係があるのか判明しないが、興味深い構造である。トンネルの最小半径は 1.47 Å であり、水分子の van der Waals 半径 (1.40 Å) より大きい。トンネル内部には多数の水分子の存在が確認され、酵素の活性に何らかの役割を果たしていると推定された。また、GdLev では MsFFase の本構造に相当する部位のアミノ酸残基が一部異なっており、トンネルがふさがったような構造となっていた。

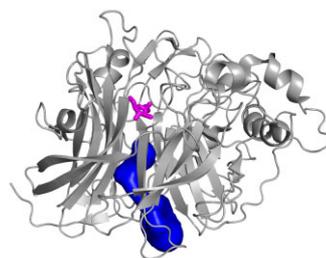


図 1 : MsFFase の構造をグレー、活性中心に存在するフルクトースをマゼンタ、クレフトの底に存在するトンネルを青で示した。

4 まとめ

MsFFase の構造を決定し、活性中心を形成するクレフトの底に水分子が多数存在するトンネルの存在を明らかにした。このトンネルがどのような役割を果たしているか、さらなる研究が望まれる。

謝辞

本研究は、海洋研究開発機構の太田ゆかり、日高祐子、片山欣哉、秦田勇二、および塩水港精糖の伊藤哲也、藤田孝輝 (以上敬称略) のグループに酵素をご提供いただきましたので、感謝いたします。

参考文献

[1] T. Tonozuka *et al.*, *Enzyme Microb. Technol.* **51**, 359 (2012).

* tonozuka@cc.tuat.ac.jp