

虫菌菌デキストラナーゼの結晶構造 Crystal structure of Streptococcal dextranase

鈴木喜大¹, 藤本瑞^{1*}, 金泳珉^{1,2}, 門間充¹, 奥山正幸², 森春英², 舟根和美³, 木村淳夫²

¹独立行政法人 農業生物資源研究所, 〒305-8602 つくば市観音台 2-1-2

²北海道大学大学院農学研究科, 〒060-8589 札幌市北区北9西9

³独立行政法人 農研機構 食品総合研究所, 〒305-8642 つくば市観音台 2-1-12

Nobuhiro Suzuki¹, Zui Fujimoto^{1*}, Young-Min Kim^{1,2}, Mitsuru Momma¹, Masayuki Okuyama², Haruhide Mori², Kazumi Funane³, Atsuo Kimura²

¹ National Institute of Agrobiological Sciences, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba 305-8602, Japan

² Hokkaido University, Kita-9 Nishi-9, Kita-ku, Sapporo 060-8589, Japan

³ National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba 305-8642, Japan

1 はじめに

Streptococcus mutans 由来のエンド型デキストラナーゼ (SmDex; EC3.2.1.11) は、糖加水分解酵素ファミリー66 に属し、デキストランを加水分解することでイソマルトオリゴ糖を産生する。本菌はデキストランスクラーゼによりデキストランを生産することから、本酵素は歯垢構成成分である粘着性多糖の一つであるデキストランに作用していると考えられる。SmDex を含む細菌由来のデキストラナーゼは活性のある多型を示し、大腸菌で発現させた全長の SmDex はプロテアーゼによる分解を受けたが、比活性に変化がなかった。我々は、活性を保持しプロテアーゼ分解を受けない N 末端及び C 末端領域を欠損した均一な変異体 (SmDexTM) の発現に成功した[1]。SmDex の触媒機構を明らかにするため、SmDexTM を用いた X 線結晶構造解析を行った。

2 実験

大腸菌で発現させた SmDexTM の結晶を作製し、高エネルギー加速器研究機構放射光施設において X 線回折データを取得した[2]。SeMet 置換体の結晶を用いた多波長異常散乱法で立体構造を決定した[3]。

3 結果および考察

SmDexTM は免疫グロブリン様構造のドメイン N、(β/α)₈ バレルのドメイン A、グリークキーモチーフのドメイン C で構成されていた。SmDex とイソマルトトリオース (IG3) との複合体の構造解析では、結晶化溶液中で IG3 から逆反応により生成されたと考えられるイソマルトテトラオースかそれ以上の重合度のイソマルトオリゴ糖が、ドメイン A の中心部の触媒溝のサブサイト-1 から-4 に結合していることが確認された。少なくとも4つのグルコースを認識する SmDex の基質認識機構を明らかにした。また、結合していたイソマルトオリゴ糖の構造から、本酵素の触媒アミノ酸は、Asp385 と Glu453 であり、それぞれがアノマー保持型反応機構の求核触媒基および酸塩基触媒基であることが明らかになった。

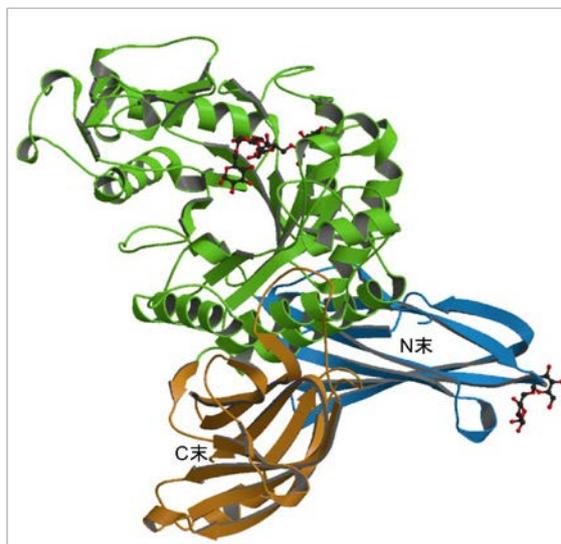


図1 : SmDex の結晶構造

4 まとめ

糖加水分解酵素ファミリー66 のデキストラナーゼの結晶構造を決定した。このファミリーで最初の構造解析例となり、酵素の加水分解機構を明らかにすることができた。

謝辞

本研究は、生研センターイノベーション創出事業の支援のもとで行われた。

X 線データ測定においては PF スタッフの方々に大変お世話になりました。ここに感謝致します。

参考文献

- [1] Y.-M. Kim *et al.*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **91**, 329 (2011).
 [2] N. Suzuki *et al.*, *Acta Cryst.* **F67**, 1542 (2011).
 [3] N. Suzuki *et al.*, *J. Biol. Chem.* **287**, 19916 (2012).

* zui@nias.affrc.go.jp