

## 植物の複合糖鎖を分解するビフィズス菌の新規酵素の構造解析 Crystallography of novel enzymes from Bifidobacteria acting on plant glycoconjugates

伊藤 佑, 齊川 匡, 荒川 孝俊, 伏信 進矢\*

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

Tasuku Ito, Kyo Saikawa, Takatoshi Arakawa and Shinya Fushinobu\*

Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657,  
Japan

### 1 はじめに

ビフィズス菌は「善玉」乳酸菌として有名であり、ヒトの健康への寄与が科学的に解明されつつある。ビフィズス菌が棲息する小腸下部から大腸の腸管には、澱粉などの分解されやすい糖質はほとんど届かないため、難分解性糖質を利用するための、多様な糖質分解酵素を有する。鹿児島大の藤田らは、*Bifidobacterium longum* JCM1217 株から、植物のβ-アラビノオリゴ糖代謝に関わる遺伝子群を発見した [1, 2]。ジャガイモ・トマトなどのナス科植物のレクチンや、植物の細胞壁に豊富に存在するエクステンシン様タンパク質など、ヒドロキシプロリン(Hyp)に富む糖タンパク質には、主にβ-結合からなるアラビノフラノオリゴ糖鎖が Hyp に付加している。このような糖タンパク質は野菜などから日常的に摂食されているにも関わらず、β-アラビノオリゴ糖を分解する酵素はこれまで全く知られていなかった。一方、α-アラビノオリゴ糖に作用する酵素は多数知られており、よく研究されている。本研究では、この分解系を構成する糖質分解酵素とトランスポーターの X 線結晶構造解析を行い、これらの分子機構を原子レベルで詳細に解明することを目的とした。

### 2 実験

ビフィズス菌のβ-アラビノオリゴ糖分解経路に属する GH127 HypBA1 の結晶化を行い、KEK-PF の構造生物学ビームラインを利用して回折測定実験を行った。また、その他のβ-アラビノオリゴ糖分解経路の酵素(タンパク質)の結晶化と予備的データ測定も行った。

### 3 結果および考察

HypBA1 の結晶構造を Se-SAD 法を用いて決定した。HypBA1 は二量体構造を取っており、その単量体は、(α/α)<sub>6</sub> バレル触媒ドメイン、β サンドイッチドメイン 1、β サンドイッチドメイン 2 からなる(図 1)。HypBA1 の触媒ドメインには特徴的なループが二つあり、基質フリー構造(分解能 2.2 Å)ではこれらがディスオーダーしていたが、アラビノース複合体構造(分解能 2.0 Å)ではこれらが

観測できた。アラビノース複合体の構造から、HypBA1 の活性中心には Zn<sup>2+</sup> が結合しており、それに 3 つのシステインと 1 つのグルタミン酸残基が配位していることが分かった。生化学的実験および量子化学計算より、HypBA1 の酸/塩基触媒残基は Glu322 で、求核触媒残基は Cys417 であることが示唆された。

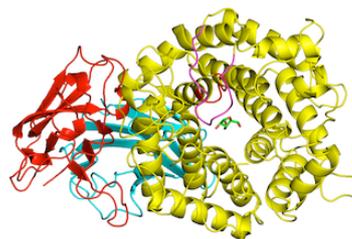


図 1 : HypBA1 の単量体構造

### 4 まとめ

これまで、糖質加水分解酵素で活性中心がシステインのものは全く知られておらず、HypBA1 は新規な活性中心を持つ酵素であると考えられる。

### 謝辞

実験をサポートして下さった KEK および PF のみなさん、共同研究者の若木高善先生、鹿児島大の藤田清貴先生、理研の伊藤幸成先生、石渡明弘先生、Sophon Kaeothip 博士、米国 NREL の Gregg T. Beckham 博士、Seonah Kim 博士に感謝いたします。

### 参考文献

- [1] Fujita *et al.*, *JBC* **286**, 5143 (2011)
- [2] Fujita *et al.*, *JBC* **289**, 5240 (2014)

### 成果

- 1 Ito *et al.*, *BBRC* **447**, 32 (2014)

\* asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp