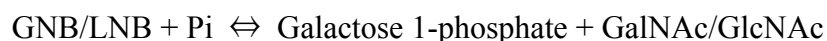


ビフィズス菌由来ガラクト-*N*-ビオース/ラクト-*N*-ビオース I ホスホリラーゼの結晶構造解析

○日高將文^{1,2}、西本完²、中島将博²、北岡本光²、若木高善¹、祥雲弘文¹、伏信進矢¹

¹東大・院農・応生工、²農研機構・食総研

Gal-β1,3-HexNAc 構造を持つ二糖類、ラクト-*N*-ビオース I (LNB; Gal-β1,3-GlcNAc)、ガラクト-*N*-ビオース (GNB; Gal-β1,3-GalNAc)はそれぞれ母乳に含まれるヒトミルクオリゴ糖や腸管ムチン糖鎖の構成単位として腸内に存在する。ビフィズス菌は GNB/LNB を切り出して菌体内に取り込み資化するユニークな代謝系を持つ。本代謝系の中で GNB/LNB 資化性を決定する鍵酵素が



を触媒する加リン酸分解酵素 GNB/LNB ホスホリラーゼ(GLNBP)である。GLNBP は GNB/LNB に対する活性比がほぼ 1:1 である。近年、病原性腸内細菌 *Clostridium perfringens* が GNB に高い選択性(活性比 60:1)を示す加リン酸分解酵素(GNBP)、*Vibrio vulnificus* が LNB に選択的(活性比 1:70)な酵素(LNBP)を持つことが報告されたが、ビフィズス菌は GLNBP の持つ幅広い基質特異性により、腸内において優先的に増殖・定着すると提唱されている(1)。本研究では GLNBP の X 線結晶構造を明らかにし、反応特性の構造基盤の獲得を目的とした。

Bifidobacterium longum JCM1217 株由来 GLNBP と基質アナログ (SO₄²⁻)、生成物 (GalNAc/GlcNAc)との複合体構造を分解能 1.85-2.3 Å で決定した。GLNBP は糖質関連酵素に最も一般的な TIM バレル型の構造を有していたが、基質の結合によってバレル構造を大きく歪めており、触媒反応の過程で構造が劇的に変化するという点で既知の TIM バレル型酵素と一線を画していた。

GLNBP の活性中心部位に結合した GalNAc/GlcNAc の認識残基を GNBP のアミノ酸配列と比較したところ、C4 位水酸基近傍のアミノ酸残基に明確な違いが見られた。GLNBP に一残基変異を導入して GNBP 型のアミノ酸に置換したところ、GNB/LNB に対する活性比が 3:1 と LNB に対する特異性が低下しており、この残基が GLNBP の基質特異性決定因子の一つであると考えられる。

近年、腸内細菌のゲノム解析の進展に伴い、GLNBP と相同性をもつ遺伝子が多数報告されている。GLNBP の構造解析により得られた構造機能相関は、これらの酵素の基質特異性と機能を予測する指標となると期待される。

(1) Kitaoka et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 3158-3162 (2005).

