

タンパク質結晶構造解析ユーザーグループ

ビフィズス菌由来エンド- α -N-アセチルガラクトサミニダーゼの結晶構造解析

鈴木龍一郎¹、片山高嶺²、芦田久³、山本憲二³、北岡本光⁴、熊谷英彦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石川県大・生資工研、³京大院生命・統合生命、⁴農研機構・食総研

Endo- α -N-acetylgalactosaminidase (endo- α) は、ムチン型糖鎖のコア 1 構造 (Gal β 1-3GalNAc α 1-Ser/Thr) の O-グリコシド α 結合を加水分解してコアタンパクからガラクト-N-ピオース (GNB, Gal β 1-3GalNAc) を無傷で遊離する酵素であり、glycoside hydrolase (GH) family 101 に分類されている。*Bifidobacterium longum* JCM1217 株由来の endo- α (EngBF) およびそのホモログである *Clostridium perfringens* strain 13 由来の endo- α (EngCP) は、すでに詳細に機能解析されている。EngBF は基質特異性が狭く、ムチン型コア 1 糖鎖を特異的に認識するが、一方 EngCP は基質特異性が広く、コア 1 糖鎖以外のムチン型糖鎖にも作用できる^(1, 2)。endo- α はその糖転移活性により、様々な複合糖鎖の合成に利用できることから、構造機能相関の解明が求められている。今回我々は、EngBF の結晶構造を高分解能 (2.0 Å) で決定し、基質認識のメカニズムに関する知見を得たので報告する。

EngBF の立体構造は、活性を保持する最小領域として、ドメイン 2-7 までの立体構造を決定した。 α -アミラーゼファミリーとの構造比較から、EngBF の触媒残基は Asp789 (求核性触媒残基) および Glu822 (一般酸塩基触媒残基) であることが明らかになった。次いで、EngBF の基質認識の構造的基盤を GNB のドッキング解析および変異導入実験によって推測した。ドッキングモデル中の GNB は、触媒ドメイン中の狭いポケットに特異的に結合していた。また、GNB と相互作用していると予想されたアミノ酸残基の変異体の活性は、野生型と比較して著しく減少していたことから、ドッキングモデルの妥当性が確かめられた。得られた EngBF の構造的基盤を EngCP と比較したところ、両者の異なる基質特異性は、基質結合ポケットを形成する領域におけるアミノ酸配列の違いに帰結された。我々の結果は、ムチン型糖鎖を無傷で遊離するエンド型グリコシダーゼの反応機構と基質認識機構に関する知見を提供するものである。

1) Fujita, K. et al., *J. Biol. Chem.*, **280**, 37415-37422 (2005).

2) Ashida, H. et al., *Glycobiology*, **18**, 727-734 (2008).