

Bacillus circulans T-3040 由来 cyclodextran glucanotransferase (CITase) の X 線結晶構造解析

鈴木喜大¹、門間充¹、金泳珉^{1,2}、小林幹彦^{1,3}、
木村淳夫²、舟根和美³、藤本瑞¹

¹ 農業生物資源研究所、² 北大院農、³ 農研機構・食総研

サイクロデキストラン(環状イソマルトオリゴ糖・CI)はグルコース分子が α -1,6結合で連結した環状のオリゴ糖で、*Bacillus circulans* T-3040 株の培養液中に発見された。7~17 個のグルコースから成る CI-7~CI-17 が存在する。CIの構造は α -1,4 結合で連結した環状のオリゴ糖であるサイクロデキストリン(CD)の構造に似ているが(図1)、極めて高い水溶性、抗プラーク性を示すなど CD とは異なる性質を持っており、CI の今後の応用が期待されている。我々は *B. circulans* T-3040 株が有する cyclodextran glucanotransferase (あるいは cycloisomaltooligosaccharide glucanotransferase: CITase) がデキストランから CI を合成する酵素であることを明らかにしており、今後 CI の効率的、安定的な供給のためには本酵素の改良が必要であり、酵素反応機構を明らかにし、分子改変のための構造基盤を得る目的で分子構造解析に着手した。

CITase の C 末端の基質結合能をもつドメインを除いた C 末欠損変異体の結晶化を行い、PF-BL17A において X 線回折データを取得した。さらにセレノメチオニン誘導体結晶を作製後、多波長異常分散法を用いて 2.4Å 分解能での結晶構造を決定した。その結果、CITase は $(\beta/\alpha)_8$ バレルをコアとする多ドメイン構造をとっており、 $(\beta/\alpha)_8$ バレルの N 末端側にはおよそ 110 アミノ酸残基による 7 つの β ストランドからなる β ドメインが、C 末端側には β グリークキーモチーフの β ドメインが存在し、さらにバレルの途中から張り出したおよそ 130 アミノ酸残基からなる Carbohydrate Binding Module 様ドメインが確認された。

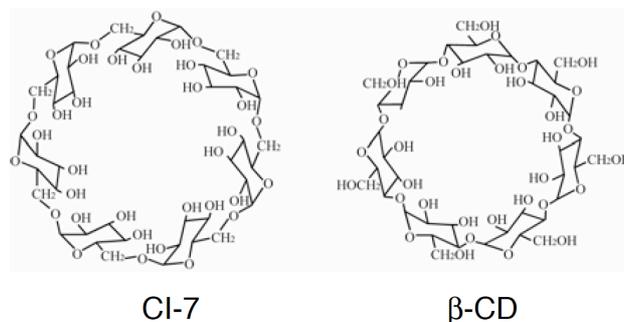


図 1. CI と CD の分子構造