

Bacillus circulans T-3040 由来サイクロデキストラン 合成酵素と環状イソマルトオリゴ糖との複合体の X 線 結晶構造解析

Crystallographic analysis of CITase from *Bacillus circulans* T3040 in complex with cyclodextran

○ 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オリゴ糖で、デキストランを含む培地で *Bacillus circulans* T-3040 株を培養した際に培養液中に発見された。CIは高い水溶性、抗プラーク性を示すことから機能性糖として食品・医薬分野での今後の応用が期待されている。我々はすでに GH ファミリー66 に属する 934 アミノ酸残基からなる cyclodextran glucanotransferase (或は cycloisomaltooligosaccharide glucanotransferase: CITase) がデキストランから CI の合成の触媒を担っていることを明らかにしている。そこで CI の高効率で安定した供給を目指して、本酵素の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の立体構造決定に着手した。

本研究では C 末端領域(234 アミノ酸)を欠いた変異体およびその活性アミノ酸残基の一つである Asp270 をアラニンに置換した変異体(CITaseD270A)の結晶化に成功した。変異体の結晶に主要産物の一つである CI8(重合度 8)をソーキングして複合体を調製し X 線結晶構造解析を行った。

CITase は、7つの β ストランドからなる β ドメイン、(β/α)₈ バレルからなる活性ドメイン、 β グリークキーモチーフの β ドメイン、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糖結合モジュール(CBM35)様ドメインからなる多ドメイン構造を形成していた。CI8 複合体の解析では活性ドメインおよび CBM35 に CI8 が1分子ずつ結合しているのが観察された。本酵素の立体構造と CI8 認識機構の詳細について報告する。