

## *Streptococcus mutans* 由来デキストラナーゼの結晶構造に基づく触媒機構の解明

### Structural studies of the catalytic mechanism of dextranase from *Streptococcus mutans*

鈴木喜大<sup>1</sup>、金泳珉<sup>1,2</sup>、藤本瑞<sup>1</sup>、門間充<sup>1</sup>、奥山正幸<sup>2</sup>、森春英<sup>2</sup>、舟根和美<sup>3</sup>、木村 淳夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 農業生物資源研究所、<sup>2</sup> 北大院農、<sup>3</sup> 農研機構・食総研

*Streptococcus mutans* ATCC25175 由来のエンド型デキストラナーゼ(SmDex; EC 3.2.1.11)は、糖加水分解酵素ファミリー66 に属し、デキストランの  $\alpha$ -1,6 結合を加水分解することでイソマルトオリゴ糖を産生する。SmDex を含む細菌由来のデキストラナーゼは活性のある多型を示し、大腸菌で発現させた全長の SmDex はプロテアーゼによる分解を受けたが、比活性に変化がなかった。最近我々は、活性を保持しプロテアーゼ分解を受けない N 末端及び C 末端領域を欠損した均一な変異体(SmDex-TM)の発現に成功した。本研究は SmDex の触媒機構を明らかにするため、大腸菌で発現させた SmDex-TM 及びその Se-Met 置換体の結晶を用いて、高エネルギー加速器研究機構においてデータを取得し、多波長異常散乱法で立体構造を決定した。

SmDex-TM は免疫グロブリン様構造のドメイン N、 $(\beta/\alpha)_8$  バレルのドメイン A、グリークキーモチーフのドメイン C で構成されていた。また、ソーキング法により SmDex-TM とイソマルトトリオース(IG3) 又は自殺基質である 4',5'-エポキシペンチル  $\alpha$ -D-グルコピラノシド(E5G)との複合体を作製し、その結晶構造解析からドメイン A の中心部の触媒溝にある活性アミノ酸残基を決定した。結晶中では IG3 から逆反応によりイソマルトテトラオースかそれ以上の重合度のイソマルトオリゴ糖が生成され、触媒溝のサブサイト-1 から-4 においてイソマルトオリゴ糖由来と思われる電子密度が確認され、SmDex の基質認識機構を明らかにできた。

本研究は、生研センターイノベーション創出事業の支援のもとで行われた。