

嫌気性ルーメン細菌 *Ruminococcus albus* 由来 セロビオース 2-エピメラーゼの立体構造解析 Structural analysis of cellobiose 2-epimerase from ruminal bacterium *Ruminococcus albus*

藤原孝彰¹⁾, 佐分利亘²⁾, 松井博和²⁾, 姚閔^{1,3)}, 田中勲^{1,3)}

1) 北大院・生命, 2) 北大院・農, 3) 北大院・先端生命

反芻動物の第1胃(ルーメン)には, 数多くの微生物が生息し, 摂取した食物中に含まれる植物繊維を消化することで, 宿主がエネルギー源として吸収可能な化合物へと分解するはたらきを有する. 牛のルーメンから発見されたセルロース分解性嫌気性細菌 *Ruminococcus albus* は, セロビオースとグルコシルマンノースの間の異性化反応を触媒する酵素として知られるセロビオース 2-エピメラーゼ(CE)を有する. 近年, *R. albus* 由来 CE(*RaCE*)がセロビオースだけでなく, ラクトースにも作用し, 稀少オリゴ糖であるエピラクトースへと変換することが明らかとなった. 我々は, CE の構造情報を基に, 基質認識や反応機構を解明することを目的として, リコンビナント *RaCE* の X 線結晶構造解析を行った.

RaCE の結晶化は, マロン酸ナトリウムを沈殿剤とするハンギングドロップ蒸気拡散法により行った. 得られた結晶を用いて, 放射光施設で X 線回折測定を行い, 分解能 2.6 Å のデータを取得した. XDS による回折データの積分, スケーリングの結果, *RaCE* の結晶は, 空間群 $P2_12_12_1$ に属し, 格子定数は $a=98.9$, $b=100.9$, $c=186.0$ (Å)であった. *RaCE* の立体構造は, *sculptor* により修正した *N*-アセチルグルコサミン 2-エピメラーゼ(AGE) (PDBID: 3GT5)をサーチモデルとした分子置換法により決定し, *phenix.refine* により, R_{work} , R_{free} がそれぞれ 18.5 %, 23.3 %まで構造精密化を行った.

RaCE は, AGE と同様に $(\alpha/\alpha)_6$ バレルフォールドを形成し, 内側の 6 本のヘリックスの間に基質結合部位が存在していた. AGE では, 基質結合部位に酸/塩基触媒として機能する 2 つのヒスチジンが配置しており, *RaCE* でも同様の位置に His243, His374 が存在していた. しかし, His243 は, Asn180, Ser240 と相互作用することで, 対応する AGE のヒスチジンとは配向が異なっていた. これらの CE 特異的な相互作用により, CE では厳密に触媒残基の配向が調整されていることが示唆された.