

Bacillus subtilis 由来 levansucrase によるフルクトシルオリゴ糖の合成 および受容体特異性に関する研究

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子酵素学 渡辺 基志

1. はじめに

フルクトシルオリゴ糖は構成単糖に fructose を 1 分子以上含むオリゴ糖の総称である。フルクトシルオリゴ糖には抗う蝕性, 抗がん作用およびプロバイオティクスとしての機能などが報告されている。また, フルクトシルオリゴ糖は基質として応用できる可能性がある。フルクトシルオリゴ糖の中には高い結合エネルギーを持つものがあると考えられる。sucrose は glucose と fructose からなる非還元的なオリゴ糖であり, その結合エネルギーは約 29 kJ/mol と高く, UDP-glucose などの糖ヌクレオチドのそれと同等の値である。糖ヌクレオチドは糖質関連酵素の基質となり, オリゴ糖や配糖体合成に寄与しているが, 高価であるためその利用は制限されてしまう。sucrose と類似的な結合様式を持つフルクトシルオリゴ糖を合成できれば, その結合エネルギーは sucrose 同様に高いと考えられる。このような sucrose 類似体は糖ヌクレオチドの代用基質となり, 低コストでのオリゴ糖や配糖体合成に貢献できると考えられる。本研究では *Bacillus subtilis* 由来の levansucrase (SacB) を用いることでフルクトシルオリゴ糖の合成を試みた。

2. 方法

SacB の反応において sucrose を供与体とし, 各種糖を受容体として用いることで受容体に fructose が結合したフルクトシルオリゴ糖の合成を試みた。得られたフルクトシルオリゴ糖にアルカリ加熱処理を施すことで結合を推定し, 活性炭カラムにより単離した。また, 各受容体存在下における SacB の glucose 遊離速度を算出し, 受容体特異性を評価する速度パラメータを求めた。得られたパラメータおよび構造解析より SacB の受容体特異性を評価した。

3. 結果と考察

SacB は xylose, galactose, arabinose, maltose, isomaltose, lactose, cellobiose, melibiose, maltotriose および isomaltotriose を受容体とし, 非還元フルクトシルオリゴ糖を合成することがわかった。構造解析により Arg360 が受容体認識に重要であることが示唆された。また, 各受容体存在下における速度パラメータを算出し, 受容体特異性を評価したところ α -1,6 結合を有する isomaltose, melibiose および isomaltotriose が特異性の高い受容体であることがわかった。構造解析からも SacB の活性部位は α -1,6 結合に特異的な構造であることが示唆された。

4. まとめ, 展望

本研究により各種の非還元フルクトシルオリゴ糖の合成に成功した。今後は今回得られたフルクトシルオリゴ糖の構造や機能に関する研究および基質としての応用などが期待できる。また, 本研究では SacB における受容体特異性を生み出す構造因子を速度論的解析とともに考察した。今後は変異導入による受容体特異性拡張および効率的なフルクトシルオリゴ糖生産酵素などの研究に貢献できると考えられる。