

腸内細菌 *B. caccae* のイヌリン分解酵素による DFA III 還元末端オリゴフルクトフラノシド生成機構解析

(理研開拓研究本部¹・鹿児島大農²・東科大院物質理工³・阪大院理⁴) ○石渡明弘¹・志手由里奈²・北原兼文²・藤田清貴²・田中克典^{1,3}・伊藤幸成^{1,4}

Analysis of production mechanism of oligofructofranoside with reducing terminal DFA III by inuline-degrading enzyme from *B. caccae* (¹RIKEN CPR, ³Fuc. Agr., Kagoshima Univ., ³Sch. Mat. Chem. Technol., Sci. Tokyo, ⁴Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.) ○Akihiro Ishiwata,¹ Yurina Shite,² Kanehumi Kitahara,² Kiyotaka Fujita,² Katsunori Tanaka,^{1,3} Yukishige Ito^{1,4}

Identification of isolated tri- and tetra-saccharides from inulin degradation by *Bacteroides caccae* was carried by mass and NMR analyses and the results suggested that they are oligofructofuranoside with α -D-fructofuranose β -D-fructofuranose 1,2';2,3'-dianhydride (DFA III) terminal structure, such as β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III and β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)- β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III, respectively. Functional and structural analyses of the GH91 enzyme were further employed, indicated its unique heterodimeric structure, the key residues and proposed mechanisms in the active site.

Keywords: D-fructofuranoside; inulin-degrading enzyme; intestinal bacterial enzyme; structural analysis.

腸内細菌の一つ *Bacteroides caccae* は、スクロースに β -(1 $\rightarrow$ 2)フルクトシド結合からなる多糖が付加したフルクタンであるイヌリンを資化可能である¹⁾。フルクタンからフルクトースを得て資化していると考えられるが、他のバクテロイデス種から α -D-フルクトフラノース β -D-フルクトフラノース 1,2';2,3'-ジアンヒドリド (DFA III) などの DFA 構造を形成するイヌリンフルクトース転移酵素 (IFTase) 群がみいだされ^{2,3)}、DFA を経由する分解資化機構が提唱されている。これまで *B. caccae* のイヌリン分解は、短縮したフルクタンの生成確認により評価されているが、詳細な機構については、議論の余地があった。今回、イヌリン分解後に、短縮したフルクタン以外の生成物として分離された DFA III 含有オリゴ糖構造の同定、及び糖質加水分解酵素 (GH) ファミリー 91 に属する endo 型 IFTase の機能解析と、機構解析について報告する。

B. caccae によるイヌリン分解において生成する β -(1 $\rightarrow$ 2)-フルクトシド以外の低極性側の生成物の構造決定をおこなった。化学変換、質量分析と NMR 解析にて構造解析したところ、三糖および四糖成分が主成分として分離されており、 β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III と β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)- β -D-Fruf-(2 $\rightarrow$ 1)-DFA III であることが明らかとなった¹⁾。*B. caccae* 由来の GH91 類縁体酵素から機能解析と構造解析を行い、新規 IFTase の活性構造としてヘテロダイマーであることと、その触媒残基と endo 型機構の推定を行った¹⁾。

参考文献: 1) Sonnenburg, E. D. *et al.*, *Cell* **2010**, *141*, 1241; 2) Jung, W. S. *et al.*, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 8414; 3) Yu, S. *et al.*, *ACS Catal.* **2018**, *8*, 10683; 4) Ishiwata, A. *et al.*, *Submitted for publication*.