

環境とバイオテクノロジー
2022 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

阪中 幹祥

京都大学 大学院生命科学研究科
特定准教授

糖タンパク質代謝を軸とした腸内細菌と宿主の共生機構の解明

研究成果の概要

本研究は、種々のタンパク質のアスパラギン残基に結合している糖鎖 (*N*-グリカン) が腸内細菌によって如何にして利用されるのか、および、*N*-グリカン利用が腸内生態系にどのような影響を及ぼすのかを解明することを目指す。*N*-グリカン利用経路はいくつかの腸内細菌種が有していると考えられているが、本研究では特にヒトの健康に有用なビフィズス菌の *N*-グリカン利用に焦点を当てて研究を展開する。

本年度は、ビフィズス菌が有する細胞外 *N*-グリカン遊離酵素「エンド- β -*N*-アセチルグルコサミナーゼ; EndoBI-1」の遺伝学的および生化学的解析を実施した。はじめに、遺伝学的解析として、EndoBI-1 をコードする遺伝子をビフィズス菌において欠損し、本欠損株の性状解析を実施した。具体的には、野生株または EndoBI-1 欠損株の菌体を RNase B (*N*-グリカンが付加されているタンパク質) の存在下でインキュベートし、*N*-グリカンが遊離されるかを SDS-PAGE 解析により調査した。その結果、EndoBI-1 遺伝子欠損株の *N*-グリカン遊離能は野生株のそれと比較して低下していることが明らかとなった。また、生化学的解析を実施するために、EndoBI-1 発現プラスミドを構築し、当該酵素の大腸菌内における過剰発現および精製を行った。その後、精製 EndoBI-1 を RNase B に作用させたところ、*N*-グリカンが既報の通り遊離されることが示された (Garrido *et al.*, *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11:775)。これらのことから、EndoBI-1 はビフィズス菌による *N*-グリカン遊離を支える重要な酵素であることを生化学および遺伝学の両方の観点から実証することができたといえる。現在、EndoBI-1 が腸内生態系に及ぼす影響をさらに解析するための基盤を整備しているところである。