

BUJACZ A., JEDRZEJCZAK – KRZEPKOWSKA M., BIELECKI S., REDZYNIA I., BUJACZ G., (2011). Crystal structures of the *apo* form of  $\beta$ -fructofuranosidase from *Bifidobacterium longum* and its complex with fructose. FEBS Journal, Vol.278, 1728-1744.

## ABSTRACT

We solved 1.8 Å crystal structure of  $\beta$ -fructofuranosidase from *Bifidobacterium longum* KN29.1 - a unique enzyme that allows these probiotic bacteria to function in the human digestive system. The sequence of  $\beta$ -fructofuranosidase classifies it as belonging to the glycoside hydrolase family 32 (GH32). GH32 enzymes show a wide range of substrate specificity and different functions in various organisms. All enzymes from this family share a similar fold, containing two domains: an N-terminal five-bladed  $\beta$ -propeller and a C-terminal  $\beta$ -sandwich module. The active site is located in the center of the  $\beta$ -propeller domain, in the bottom of a “funnel”. The binding site, -1, responsible for tight fructose binding, is highly conserved among the GH32 enzymes. *B. longum* KN29.1  $\beta$ -fructofuranosidase has a 35-residue elongation of the N terminus containing a 5-turn  $\alpha$ -helix, which distinguishes it from the other known members of the GH32 family. This new structural element can be one of the functional modifications of the enzyme that allows the bacteria to be active in a human digestive system. We also solved 1.8 Å crystal structure of the  $\beta$ -fructofuranosidase complex with  $\beta$ -D-fructose, a hydrolysis product obtained by soaking *apo* crystal in raffinose.

**Keywords:**  $\beta$ -fructofuranosidase, *Bifidobacterium longum*, glycoside hydrolase family GH32, crystal structure, lactic acid bacteria

BUJACZ A., JEDRZEJCZAK – KRZEPKOWSKA M., BIELECKI S., REDZYNIA I., BUJACZ G., (2011). Struktura krystaliczna formy *apo*  $\beta$ -fruktofuranazy z *Bifidobacterium longum* i jej kompleks z fruktozą. FEBS Journal, Vol.278, 1728-1744.

## ABSTRAKT

Rozwiązano strukturę krystaliczną o rozdzielczości 1.8 Å  $\beta$ -fruktofuranazy z *Bifidobacterium longum* KN29.1 – wyjątkowego enzymu, który pozwala tym probiotycznym bakteriom funkcjonować w przewodzie pokarmowym człowieka. Na podstawie sekwencji aminokwasowej  $\beta$ -fruktofuranazy została zaklasyfikowana do 32 rodziny hydrolaz glikozydowych (GH32). Enzymy należące do tej rodziny wykazują szeroką specyficzność substratową i pełnią różne funkcje w różnych organizmach. Wszystkie enzymy z tej rodziny mają podobną strukturę III-

rzędową, składającą się z dwóch domen: 5-cio łopatego  $\beta$ -śmigła znajdującego się w N-końcowej części białka i C-terminalnej domeny  $\beta$ -kanapki. Centrum aktywne zlokalizowane jest w rejonie  $\beta$ -śmigła, na końcu leja. Miejsce wiązania -1 odpowiedzialne za wiązanie fruktozy, jest wysoko zakonserwowane pośród enzymów rodziny GH32.  $\beta$ -fruktofuranazydaza z *B. longum* KN29.1 ma 35 dodatkowych reszt aminokwasowych na N-końcu białka, które tworzą  $\alpha$ -helisę o długości 5 skrętów co wyróżnia ją od innych znanych członków rodziny GH32. Ten nowy strukturalny element może być jedną z funkcjonalnych modyfikacji enzymu, która pozwala tym bakteriom zachować aktywność w przewodzie pokarmowym człowieka. Rozwiązano również krystaliczną strukturę  $\beta$ -fruktofuranazydazy w kompleksie z  $\beta$ -D-fruktozą, produktem hydrolizy uzyskanym po namoczeniu formy *apo* kryształu w rafinozie.

**Słowa kluczowe:**  $\beta$ -fruktofuranazydaza, *Bifidobacterium longum*, rodzina hydrolaz glikozydowych GH32, struktura krystaliczna, bakterie mlekowe