

研究課題 (テーマ)		富山産ヤスデのゲノム情報を活用した超性能酵素の創出	
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	助教	山口拓也
分担者	生物工学科	教授	加藤康夫
	生物工学科	准教授	日比慎
研究結果の概要			
<p>ヒドロキシニトリルリアーゼ (HNL) は医薬品などの重要な合成前駆体である光学活性シアノヒドリンの不斉合成を触媒する有用酵素である。HNL は主に植物から見出され、利用されてきた。我々がヤスデから見出した新規 HNL は、既知の植物由来 HNL よりもはるかに比活性が高いことに加え、熱安定性、立体選択性が高く、産業用酵素として優れた性質を有している。しかしヤスデ由来 HNL は大腸菌などの異種発現宿主における生産量が低いことから、酵素の大量調製が困難であった。酵素の祖先型配列を復元することで、異種発現宿主における生産量の向上や、熱安定性が向上することが報告されている。そこで我々は、これまでに集積した富山産ヤスデのゲノム情報などから見出したヤスデ由来 HNL 配列および HNL 様配列を用いて祖先型ヤスデ HNL (ancHNL) を復元した。さらに、ancHNL の酵素化学的諸性質を現存のヤスデ由来 HNL と比較した。</p> <p>ancHNL を大腸菌で発現すると、その生産量は現存のヤスデで最も生産量の高い OgraHNL と比較して約 20 倍であった。精製酵素のマンデロニトリル合成反応を評価したところ、ancHNL の比活性は OgraHNL よりも低かったものの、両酵素は同等の立体選択性を示した。また、耐熱性をサーマルシフトアッセイによって評価すると、T_m 値は OgraHNL の 69 °C よりも高い 76 °C であった。さらに、HNL を用いた光学活性シアノヒドリンの合成は酸性条件で行われることから、pH 3.0 における安定性を評価した。その結果、ancHNL は OgraHNL よりも高い安定性を示した。以上のことから ancHNL は現存のヤスデ由来 HNL よりも大腸菌における生産性に加え、耐熱および耐酸安定性が優れていることを見出した。</p>			
今後の展開			
<p>ancHNL のより詳細な酵素化学的諸性質を解明する。祖先型酵素は基質特異性が広がることが報告されているので種々の基質に対する活性を評価する。また、ancHNL にランダム変異導入を行い、大腸菌における生産性を維持したまま、比活性の向上した変異体の創出を試みる。</p>			