

# 加水分解酵素を利用した新しい有用物質生産



## ●プロジェクトメンバー

農学部生命環境農学科  
教授 有馬二郎  
(グループリーダー)

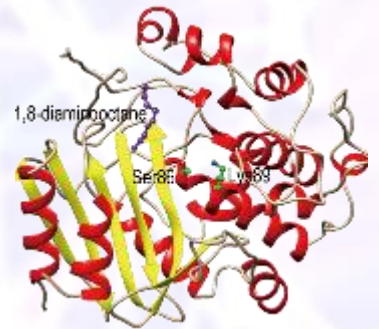
地域価値創造研究教育機構  
教授 清水克彦

農学部生命環境農学科  
助教 美藤友博

## 研究概要

加水分解酵素を利用したジペプチド合成、キチン利用、及び酵素固定化システムの構築

- 加水分解酵素は「加水分解」というシンプルな反応を触媒する反面、合成反応（副反応・誤作動）や難分解物質の分解も可能であり、その利用への可能性は計り知れません。
- 本グループでは、ペプチド加水分解やキチン加水分解酵素の機能と、タンパク質の固定化技術を組み合わせ、広汎にわたる加水分解酵素の利用の実現を目的としています。
- 具体的には、有用ジペプチドの合成や次世代バイオマス「キチン」の利用、シリカ形成タンパク質の機能を組み合わせた固定化酵素の構築を目指しています。



## サブテーマ1：セリン加水分解酵素の「誤作動」を利用したジペプチド合成

セリン加水分解酵素の本来の機能は加水分解の触媒ですが、その誤作動として転移反応を触媒します（図1）。転移反応による生成物は多様であるため、この機能を利用して、様々なジペプチドの合成に挑戦しています。これまでに、放線菌由来の酵素を利用して、食肉から抽出される筋肉成分“イミダゾールジペプチド”の合成や、農薬のリード化合物であるジケトピペラジン類の合成を実現しました（図2、参考文献1,2）。

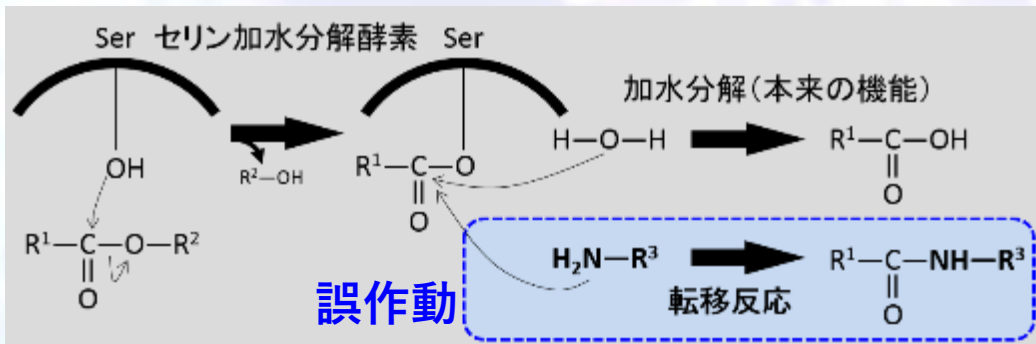


図1. セリン加水分解酵素の誤作動によるペプチド結合形成反応

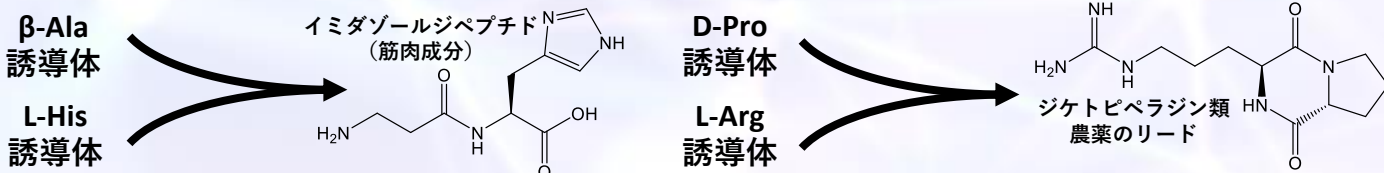


図2. これまでに合成が実現したイミダゾールジペプチド及びジケトピペラジン類

**サブテーマ2 : キチン加水分解酵素を利用した次世代バイオマス「キチン」からの有用物質生産**

キチンはセルロースに次いで生産量が多い多糖で、次世代バイオマスとしての利用に期待されています。しかし、その強固な構造から分解が難しく、未だ有効利用に至っていません。これまでに、キチン分解放線菌 *Cellulosimicrobium* sp. NTK2 (NTK2株) を単離し、そのゲノム構造を決定しました (参考文献3)。また、NTK2株による直接的なカニ殻の分解 (図3) と8つのキチン分解酵素の生産を実現しました。本研究では、NTK2株が生産するキチン加水分解酵素の廃棄物処理や農業分野への利用、そしてキチンを材料とした機能糖の生産を目指しています (図4)。なお、現在はキチン分解酵素が植物病原菌の発芽や伸長抑制機能を持つことを確認しています (図5)。

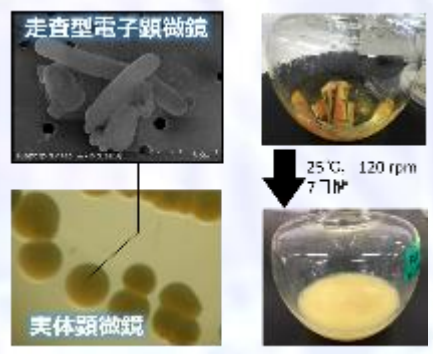


図3. NTK2株の形態とカニ殻の直接分解

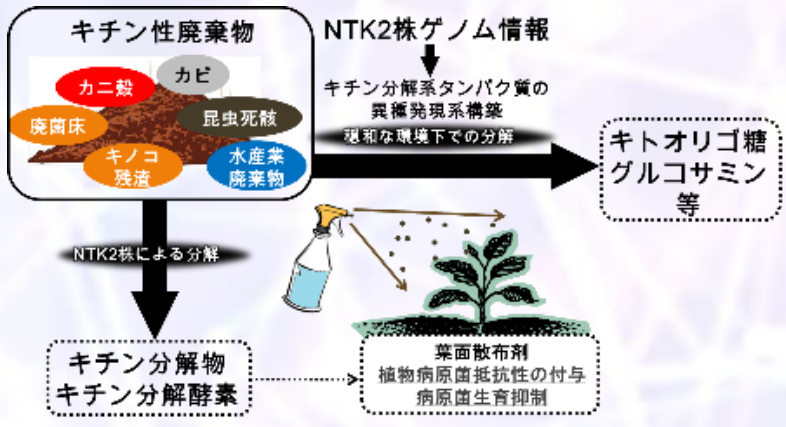


図4. 本サブテーマ研究のアウトライン

**使用菌株 *Alternaria brassicicola* (キャベツ黒すす病原菌)**

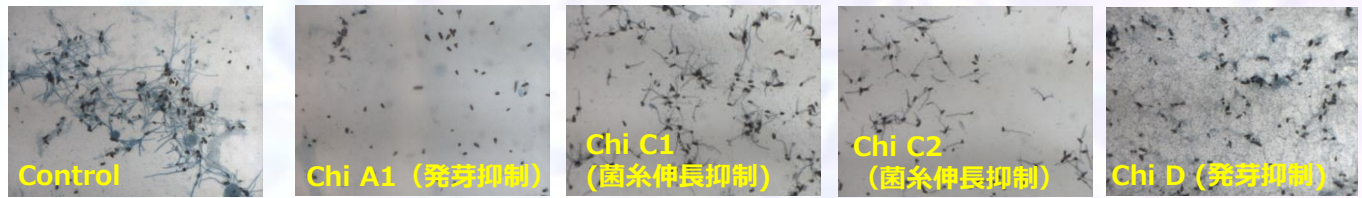


図5. NTK2株が持つキチン加水分解酵素の植物病原菌孢子発芽への影響

**サブテーマ3 : シリカ粒子形成促進タンパク質の機能を利用した新たな酵素固定化技術の開発**

酵素反応を特定の場所で行い、使用後に回収して再利用するには酵素の固定化が必要です。加水分解酵素もそのシステムの構築が望まれています。しかし、現在の固定化技術には多くの問題が山積み、殆どどの酵素で固定化が実現していません。そこで、カイロウドウケツ (ガラスカイメン類) のシリカ骨格から見出されたシリカ形成タンパク質「グラシン」 (図6、参考文献4) の機能に着目しました。グラシンは強くシリカや有機シリコンに対して吸着作用を示します。この機能を利用して、GSTの簡易的なシリカへの固定化に成功しました (図7)。この固定化技術が確立されれば、連続使用が可能で反応の場の調節ができる不溶化酵素の構築が可能となり、物質生産用のリアクターや分析・診断に利用可能なセンサーへの応用に繋がります。

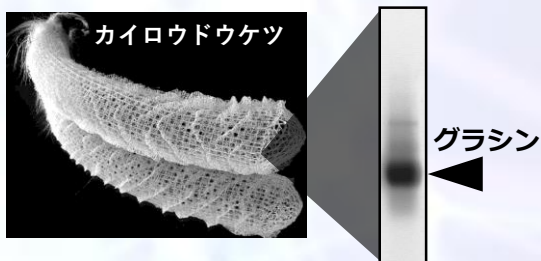


図6. カイロウドウケツから見出されたシリカ形成タンパク質グラシン

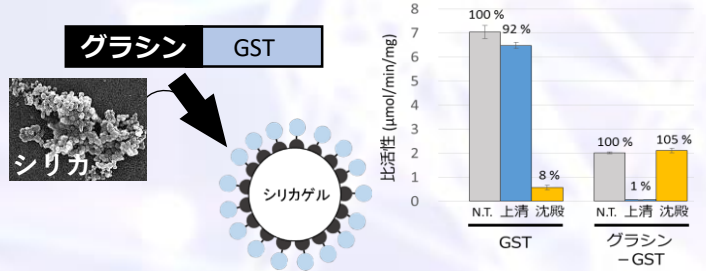


図7. グラシンの機能によるGSTの固定化

参考文献

- (1) J. Arima et al.: β-Alanyl peptide synthesis by *Streptomyces* S9 aminopeptidase. J. Biotechnol., 147, 52-58, 2010. 4
- (2) J. Arima et al.: One-pot synthesis of diverse dipeptides of DL-configuration by *Streptomyces* D-stereospecific amidohydrolase. Appl. Environ. Microbiol., 77, 8209-8218, 2011. 9
- (3) D. Niki et al.: Chitinolytic proteins secreted by *Cellulosimicrobium* sp. NTK2. FEMS Microb. Lett. 367, published online: doi 10.1093/femsle/fnaa055, 2020. 4
- (4) M. Nishi et al.: Identification of the domains involved in promotion of silica formation in Glassin, a protein occurred in hexactinellid sponge biosilica, for development of a tag for purification and immobilization of recombinant proteins. Mar. Biotechnol, published online: https://doi.org/10.1007/s10126-020-09967-2