

XB116

ナノ粒子への集積化によるセルラーゼの高機能化

(東北大院工・東北大学際)○(正)梅津 光央*・(東北大院工)金 渡明・(東北大院工)高井 興・(豊田中研) 松山 崇・(豊田中研)石田 亘広・(東北大院工)熊谷 泉・(豊田中研)高橋 治雄

【緒言】セルロースは化石燃料と補完的に働く次世代の環境調和型エネルギー資源として注目されており、低環境負荷な穏和な条件下で分解可能な酵素処理による効率的な分解が求められている。セルロース分解酵素セルラーゼの天然物の多くは結合ドメインと分解ドメインから構成されており、固液反応であるセルロース分解反応においては結合ドメインによるセルロース表面への分解ドメインの局在化が分解活性の鍵を握る。本研究では、セルラーゼの結合ドメインおよび分解ドメインをナノ粒子表面に複合的にクラスター化させることで人工多価的なセルラーゼを作製し、高いセルロース結合活性とそれに伴う高効率なセルロース分解を実現しようと試みた。

【実験】セルロース結合ドメインを持たない *Aspergillus niger* 由来エンドグルカナーゼ A(Egl) と、非晶質セルロースに結合する *Cellulomonas fimi* 由来エンドグルカナーゼのセルロース結合ドメイン(CBD)のC末端にビオチン化タグとポリヒスチジンタグを融合した組換え蛋白質を各々大腸菌発現系より調製した。調製した蛋白質はストレプトアビジンと様々な比率で混合することによって、ストレプトアビジンを中心にEglとCBDをクラスター化させた。そして、このストレプトアビジンを核とした4量体セルラーゼをリン酸膨潤セルロース(PSC)懸濁液に加え、還元糖量の経時変化を測定することによってクラスター化セルラーゼの機能評価を行った。

【結果と考察】図1に0.4 μM Egl 当たりの還元糖量変化を示す。まず初めに、ストレプトアビジンを核としてEglとCBDをクラスター化させた場合、Eglのみのクラスター化ではあまり活性は変化しなかったのに対し、クラスター内のCBD量が増加していくにつれて還元糖生成量が飛躍的に増加しているのが分かる。このストレプトアビジンによるクラスター効果は、ただ単の混合状態の結果と比較すると、2~2.7倍の活性向上を達成しており、触媒ドメインと固相結合ドメイン集積によるクラスター効果は固体分解酵素において効果的であることがわかった。

次に、ストレプトアビジンが表面に修飾している粒子径30nmのカドニウムセレン(CdSe)ナノ粒子を核としてEglとCBDをクラスター化させた(図2)。その場合、反応時間が24時間以内では、ストレプトアビジンのみを使ったクラスターとほとんど同じ活性を示したが、反応時間をより長くするにつれてナノ粒子を核としたクラスターの活性はより持続し、96時間経過ではストレプトアビジンのみと比べ約1.5倍の還元糖を生成した。

【結論】このナノ粒子を核としてEglとCBDをクラスター化してもCBDの多価効果によって酵素活性を向上させることに成功した。また、ナノ粒子を利用することによって長時間酵素活性を持続させ得ることも分かった。

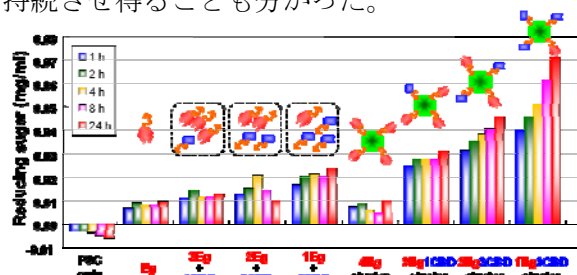


図1.アビチンを核としたクラスター化セルラーゼによる還元糖生成量変化(24時間測定)

1 mg/ml PSC へ0.4 mM となるようにEglを添加

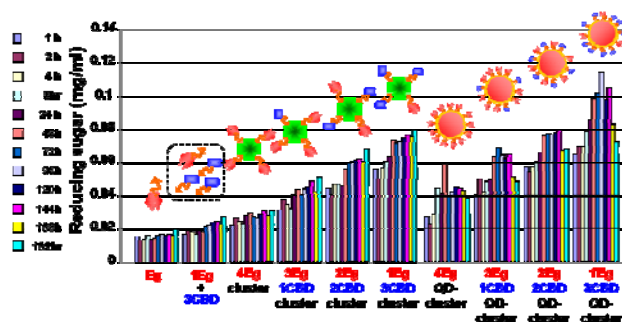


図2.アビチンもしくはCdSeナノ粒子を核としたクラスター化セルラーゼによる還元糖生成量変化(192時間測定)

1 mg/ml PSC へ0.4 mM となるようにEglを添加

*Tel/Fax : 022-795-7276
mitsuo@kuma.che.tohoku.ac.jp