

【基盤研究(S)】
生物系(農学)



研究課題名 炭素-窒素結合切断および合成酵素群の統括的機能解明と
応用開発

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授 小林 達彦
こばやしみちひこ

研究分野：応用生物化学，応用微生物学

キーワード：酵素，反応

【研究の背景・目的】

プロテアーゼが作用するペプチド結合以外の炭素-窒素 (C-N) 結合を切断する酵素や合成する酵素について、反応機構を始めとする生化学的解析はプロテアーゼほど精力的に行われていないのが現状である中、我々はこれまで、特に C-N 三重結合 [C≡N] を切断する酵素や C-N 単結合 [O=C-NH] を切断する酵素を対象としタンパク質・遺伝子レベルから解析してきている。その過程で、同じ反応を触媒しながら相同性を示さない酵素の発見およびそれらの活性アミノ酸残基の相違など多くの興味深い発見を行った。これらの知見は(従来の反応機構とは異なる)未だ発見されていない種々のタイプの C-N 結合切断酵素群が自然界に存在する可能性を示唆するものである。

本研究では、①本申請者らが取得することに成功しているオリジナルな C-N 結合切断酵素類、②活性中心が従来とは異なる種々のタイプの新規 C-N 結合切断酵素、及び、③C-N 結合合成酵素を対象とし、構造機能(反応機構を含)を生化学的に明らかにすることを目的とする。さらに本研究では、得られる情報を基に(その触媒機能を利用し)有用物質生産系の基盤を構築することを目的とする。

【研究の方法】

既存の C-N 結合切断酵素・C-N 結合合成酵素 (Aldoxime dehydratase、Isonitrile hydratase、N-Substitute formamide deformylase など) だけでなく、従来知られていないタイプの酵素も対象とし、酵素および遺伝子レベルで詳細に解析する。酵素の反応速度論的解析や分光学的解析により諸性質や機能を解明するだけでなく、立体構造や反応機構の観点からも詳細に比較解析を行う。

いずれの酵素においても、構造情報の利用や変異酵素の作製を通して、高機能化した酵素を作製するとともに、触媒機能(正反応)・逆反応・(本来の酵素反応とは異なる)酵素反応の多様性を利用した有用物質生産系開発を行う。

【期待される成果と意義】

C-N 結合切断酵素に属するプロテアーゼについては、これまで膨大な量の生化学的解析データが蓄積されているが、(本研究で扱う酵素を含め、いずれも生理的に重要な役割を持つ)プロテアーゼ以外の C-N 結合切断酵素に関する生化学的解析データの蓄積量は多くない。本研究を遂行することは、(プロテアーゼとは異なり)手つかずの重要な C-N 結合切断酵素および合成酵素群の反応機構の分野を新たに開拓するものである。

環境に優しい化学工業技術の一つである酵素を用いた物質生産は、温和な条件下で行え、ホワイトバイオテクノロジーとして注目されている。本研究で新規に解析する酵素の機能や触媒機構の解明は基礎科学の観点から意義深いのみならず、それらの基礎的知見を利用した有用物質生産検討は応用的にもフィードバックし得るものと期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- 1) Abe, T., Hashimoto, Y., Hosaka, H., Tomita-Yokotani, K & Kobayashi, M. "Discovery of amide (peptide) bond synthetic activity in acyl-CoA synthetase" *J. Biol. Chem.*, **283**, 11312-11321 (2008)
- 2) Konishi, K., Ohta, T., Oinuma, K-I., Hashimoto, Y., Kitagawa, T. & Kobayashi, M. "Discovery of a reaction intermediate of aliphatic aldoxime dehydratase involving heme as an active center" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 564-568 (2006)
- 3) Goda, M., Hashimoto, Y., Shimizu, S. & Kobayashi, M. "Discovery of a novel enzyme, isonitrile hydratase, involved in nitrogen-carbon triple bond cleavage" *J. Biol. Chem.*, **276**, 23480-23485 (2001)

【研究期間と研究経費】

平成23年度-27年度
148,500千円

【ホームページ等】

<http://dpas.agbi.tsukuba.ac.jp/~seikinou/>