

1G1b 生分解性プラスチック分解酵素 CLE の触媒機構

(広島大院理¹, 広島大QuLiS², 産総研³, 酒総研⁴)

○ 榮 慶丈^{1,2}, 松原世明^{1,2}, 相田美砂子^{1,2}, 近藤英昌³, 正木和夫⁴, 家藤治幸⁴

近年、生分解性プラスチックと呼ばれる物質が注目されている。これは自然界において、微生物の関与により低分子化合物に分解されるプラスチックのことであり、今後汎用高分子に取って替わる材料の一つとして期待されている。最近、この生分解性プラスチックに対し、高い分解能力をもつ酵素 (Cutinase-Like Enzyme; CLE) が酒類総合研究所の正木らにより発見された¹。しかしながら、X線結晶構造解析の結果からこの酵素の立体構造は分かっているものの (PDB ID:2CZQ), 触媒反応の詳細なメカニズムについては未だ明らかになっていない。

そこで我々は、この酵素がもつ高い分解能力についての知見を得ることを目的とし、その触媒反応の反応機構について理論的研究をおこなった。計算は、ONIOM 法を用い (B3LYP/6-31G**:**AMBER**) レベルでおこなった。

我々は、CLE 酵素の Thr17 の側鎖が加水分解反応に大きく関与していることを見出した。この新たに見出した反応機構と、これまでセリンプロテアーゼの加水分解反応で提案されていた反応機構のエネルギープロファイルと比較するため、通常の CLE と Thr17 を Ala で置換した突然変異体について計算を行った。その結果、前者の方がより低いエネルギー障壁をもつことが明らかとなった (下図)。

また、実験で通常の CLE と Thr17 を Ala で置換した突然変異体を発現させ、基質として *p*-Nitrophenyl butyrate を用い、反応を OD_{410nm} 測定により追跡し活性を比較した。その結果、理論計算で予測されたように、通常の CLE は Ala で置換した突然変異体よりもおよそ 100 倍の比活性をもつことが分かった。

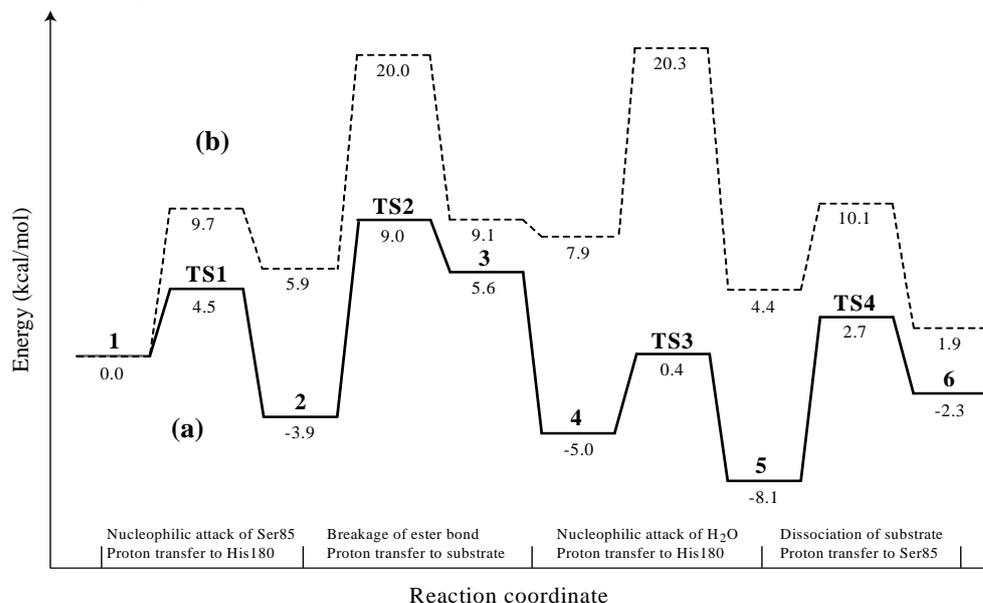


図. ONIOM 法により得られた CLE の触媒反応のエネルギープロファイル。(a) 新たに見出された反応機構, (b) これまでの反応機構

参考文献

[1] K. Masaki, N. R. Kamini, H. Ikeda, and H. Iefuji, *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 7458-7550 (2005).