

好アルカリ性細菌および高度好熱性細菌由来 GH ファミリー11 キシラナーゼの分子表面電荷改変に基づく耐アルカリ性の向上

(生体関連触媒セッション : 4F02)

(東京工業大学 大学院生命理工学研究科 生物プロセス専攻)

星野佐織・設楽まゆ子・梅本博仁・八波利恵・福居俊昭・○中村 聡

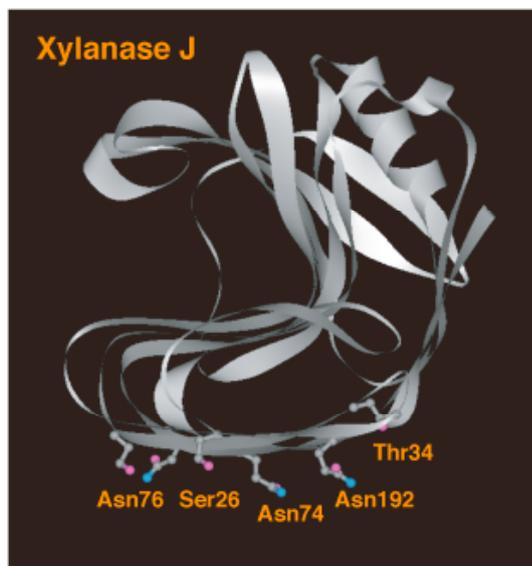
好アルカリ性細菌および高度好熱性細菌由来キシラナーゼの分子表面に過剰の塩基性アミノ酸を導入することで、耐アルカリ性ならびに耐熱性の向上に成功
→キシロオリゴ糖やバイオエタノールの効率的生産に福音

多糖キシランは、セルロースに次いで多く存在する未利用バイオマスであり、近年、バイオエタノール生産の原料としても注目を集めている。キシランのグリコシド結合を加水分解し、オリゴ糖を生成する酵素がキシラナーゼである。一般にキシランはアルカリ性条件下で水溶性が増すため、効率的な加水分解には高温・アルカリ性で高活性を示すキシラナーゼが望まれる。

ある種のアルカリ酵素は分子表面に Arg および親水性無電荷アミノ酸をもち、Lys および負電荷アミノ酸は少ないという。そのことを受け、糸状菌 *Trichoderma reesei* 由来酸性キシラナーゼ II の分子表面 (Ser/Thr 表面とよばれる領域) に過剰の Arg を導入した変異型酵素が構築され、反応至適 pH の中性域へのシフトと耐熱性の向上が観察されていた。

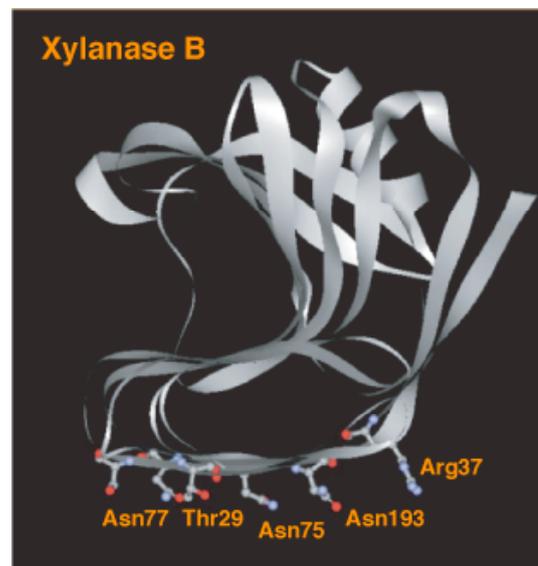
好アルカリ性細菌 *Bacillus* sp. 41M-1 株が生産するキシラナーゼ J は反応の至適を pH 9.0 というアルカリ性域に有するが、その耐熱性はあまり高くない。また、高度好熱性細菌 *Dictyoglomus thermophilum* が生産するキシラナーゼ B は反応至適温度を 90° C という高温域に有するが、アルカリ性ではほとんど活性を示さない。本研究では、分子表面に過剰の Arg を導入することで、キシラナーゼ J および B の耐アルカリ性化・耐熱化に成功した。

(1) キシラナーゼ J の耐アルカリ性化と耐熱化



触媒ドメイン領域の Ser/Thr 表面に存在する Ser26, Thr34, Asn74, Asn76 および Asn192 を Arg に置換した変異型酵素においては、反応至適 pH が 0.5 ユニット分アルカリ側にシフトし、反応至適温度が 5°C 向上した。

(2) キシラナーゼ B の耐アルカリ性化



触媒ドメイン領域の Ser/Thr 表面に存在する Thr29, Asn75, Asn77 および Asn193 を Arg に置換した変異型酵素においては、反応至適 pH が 0.5 ユニット分アルカリ側にシフトした。

(中村 聡 : nakamura.s.af@m.titech.ac.jp)