

生体触媒の新しい機能・特性の探索と解析

(東北大院・工・生工) 中山 亨

生物工学的に重要な酵素ファミリー（糖加水分解酵素ファミリー 2 ならびに 13，および植物ポリフェノールオキシダーゼファミリー）を例として，各酵素ファミリー内での酵素の特性や機能の進化を理解するための好材料を自然界に見だし，それらを各種の手法により分子レベルで解析することにより，分子進化による酵素の多様化についての重要な知見を得た。

糖加水分解酵素ファミリー 2：高いガラクトシル基転移活性をもつ β -ガラクトシダーゼを自然界に探索し，好熱性放線菌 *Saccharopolyspora rectivirgula* の新しい耐熱性 β -ガラクトシダーゼを見いだした。本酵素の性質を詳細に解析し，本酵素はその耐熱性や活性の発現に複数の金属イオンを要求する他に例のない単量体マルチメタル酵素であることを見いだした。配列解析の結果，この酵素は糖加水分解酵素ファミリー 2 に属するものの，約 200 残基にも及ぶ新規な配列の挿入ペプチドを活性部位ドメインにもつユニークな一次構造をもつことを明らかにした。この 200 残基の挿入配列と本酵素のユニークな特性との関連を蛋白工学的手法により明らかにし，この酵素ファミリーの分子・機能進化との関連から考察した。

糖加水分解酵素ファミリー 13 (α -アミラーゼファミリー)：高いグルコシル基転移活性をもつ α -グルコシダーゼをも自然界に探索し，好熱性 *Bacillus* 属細菌 SAM1606 株の耐熱性 α -グルコシダーゼを見いだした。本酵素は，糖加水分解酵素ファミリー 13 に属することを明らかにするとともに，同ファミリーの α -グルコシダーゼとしては例外的に幅広い基質特異性をもつことを明らかにし，そのユニークな基質特異性の原因となっているアミノ酸残基 (Gly273) を特定した。また，このアミノ酸残基が，本酵素の糖転移活性の高さや位置特異性の決定にも重要な役割を果たしていることを明らかにした。さらに分子モデリングにより，本酵素の特異性発現における Gly273 の役割を立体構造の上から議論した。

植物ポリフェノールオキシダーゼファミリー：オーロンは，ダリア，コスモス，キンギョソウの鮮やかな黄色の原因となる植物フラボノイド化合物の一群である。遺伝子工学による花色調節のなかでも黄色系の調節は比較的難しいとされているが，オーロンの生合成をつかさどる酵素遺伝子が明らかになれば，こうした黄色系の花色調節に有用であろうとかねてから推定され，注目されていた。しかしながら，オーロンの発見からすでに半世紀もの歳月が経つが，先人の多くの努力にもかかわらず「オーロン合成酵素」の実体は謎に包まれたままであった。黄色キンギョソウのオーロン合成酵素とその遺伝子を単離し，まったく予想外な酵素，すなわちポリフェノールオキシダーゼ (PPO) のホモログがオーロンの合成を担っていることを明らかにした。切ったリンゴやバナナなどを空気中に放置すると褐変することは日常誰もが経験するところであるが，この植物組織の褐変化が植物 PPO の主たる役割とされていた。この発見は，オーロンの生合成経路を明らかにしただけでなく，PPO ホモログが「花色発現」という明確な生物学的機能を担っていることを見いだした点で極めて意義深い。

Discovery and analyses of novel functions and properties of biocatalysts

Toru Nakayama (Dept. Biomol. Engin., Grad Sch. Engin., Tohoku Univ.)

【Key Words】glycosyl hydrolase family, β -galactosidase, α -glucosidase, polyphenol oxidase, aurone