

講演番号：3C15p11

講演日時、会場：3月26日 16:00～ C校舎 15会場

NADP⁺依存性ギ酸脱水素酵素の開発

Deveropment of NADP⁺ dependent formate dehydrogenase

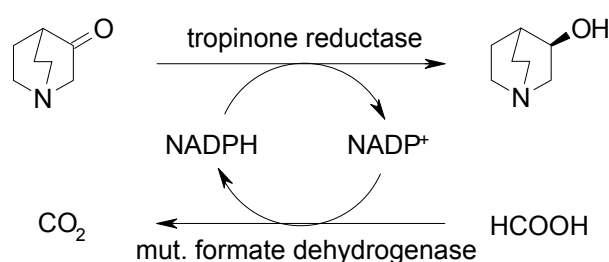
上田 桃子¹、○林 素子²、石原 浩二³、山本 浩明² (¹ダイセル・コーポレート研、²ダイセル・グリーンプロダクト開発センター、³岡山理大・理)

Momoko UEDA¹, ○Motoko HAYASHI², Kohji ISHIHARA³, Hiroaki YAMAMOTO² (¹Daicel, ²Daicel, ³Okayama Univ. Sci.)

【目的】酵素による還元反応を行う場合、補酵素の再生をどのように行うかが重要なポイントとなる。ギ酸脱水素酵素を用いた補酵素の再生は、C1化合物であるギ酸の塩を基質とした補酵素の再生が可能であるため、他のグルコース脱水素酵素やアルコール脱水素酵素を用いた補酵素再生と比較して環境負荷が小さいプロセスが構築可能である。しかし、従来報告されているほとんどのギ酸脱水素酵素はNAD⁺依存性であり、NADPHの再生ができないという欠点があった。今回我々は、補酵素選択性をNADP⁺に変え、NADPHの再生に使用可能なギ酸脱水素酵素を開発した。

【方法】有機溶媒耐性を有する *Mycobacterium vaccae* 由来ギ酸脱水素酵素¹⁾ (以下、McFDH-26) の補酵素結合領域に点変異を導入し、変異体を作成した。これら変異酵素を大腸菌で生産し、補酵素選択性及び活性を評価した。

【結果】222位 Asp 及び 224位 His に変異を導入した結果、Asp222Gln、His224Asn 変異により補酵素選択性がNAD⁺ からNADP⁺ に逆転した。両変異を有する McFDH-40 とトロピノン還元酵素と補酵素再生用基質としてギ酸ナトリウムを添加した系で3-キヌクリジノンの還元を行ったところ、基質濃度5%でも反応は完結した。即ち、補酵素依存性をNADP⁺ に変えた McFDH 変異体は、NADPH 依存性酵素の補酵素再生用酵素として十分に機能することが示された。



参考文献

- 1) H. Yamamoto, K. Mitsuhashi, N. Kimoto, Y. Kobayashi, N. Esaki, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **67**, 33-39 (2005).

formate dehydrogenase, coenzyme regeneration, mutation