

発表番号：3D050

発表日時：3月29日 14:15～15:15、発表場所：ポスター会場エリアD

ヤスデ由来ヒドロキシニトリルリアーゼの探索と大腸菌での発現系の確立

Molecular cloning of hydroxynitrile lyase from millipedes and heterologous expression in *Escherichia coli*

○山口 拓也^{1,2}、浅野 泰久^{1,2} (1 富山県大工・生工研セ、²JST, ERATO)

○Takuya YAMAGUCHI^{1,2}, Yasuhisa ASANO^{1,2} (1 Toyama Pref. Univ., ²ERATO, JST)

ヒドロキシニトリルリアーゼ (HNL) は、ケトンまたはアルデヒドとシアン化合物から光学活性シアノヒドリンの合成を触媒するため、工業プロセスで利用されている数少ない酵素であり、主にシアン化水素発生能を有する植物から見出されている。本プロジェクトで新たに見出されたヤンバルトサカヤスデ由来 HNL は、新規構造を有しているだけでなく、植物由来 HNL よりも優れた安定性、比活性を有していることが明らかになった (1)。日本国内に分布するヤスデの半数 (約 170 種) も、ヤンバルトサカヤスデのようにシアン化水素を放出することが知られていることから、それらも高性能な HNL を有していると考えられた。そこで、本研究では様々なヤスデから HNL をコードする cDNA をクローニングし、大腸菌での異種発現系の構築を行った。

まず、富山県立大学内で採集したタンバアカヤスデから HNL を精製した。本酵素はシアン化カリウムとベンズアルデヒドから (*R*)-マンデロニトリルを合成し、その比活性は 4700 U/mg であり、現在産業利用されているアーモンド由来 HNL の比活性、1450 U/mg の約 3 倍であった。続いてヤンバルトサカヤスデとタンバアカヤスデ由来 HNL の保存領域から縮重プライマーを設計し、ヤケヤスデ、ウマガエシアカヤスデおよびミドリババヤスデから HNL をコードする cDNA のクローニングに成功した。これらの HNL は、ヤンバルトサカヤスデ由来 HNL と 50～70% の一次構造の相同性を有し、昆虫培養細胞において発現し、HNL 活性を示した。さらに、これら HNL の大腸菌での発現を試みた結果、ヤケヤスデ由来 HNL の発現に成功した。この HNL の酵素化学的諸性質を検討した結果、アーモンド由来 HNL と同等以上の比活性 (1780 U/mg) を有し、80° C で 60 分間インキュベート後も 50% の残存活性を示した。以上のことから、ヤスデ由来 HNL は一般に優れた比活性と安定性を有し、特に、大腸菌で発現可能なヤケヤスデ由来 HNL は産業利用に資する酵素だと考えられた。

1. Dadashipour, M., Ishida, Y., Yamamoto, K. & Asano, Y. Discovery and molecular and biocatalytic properties of hydroxynitrile lyase from an invasive millipede, *Chamberlinius hualienensis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, 10605–10610 (2015).

Hydroxynitrile lyase, Millipede, Heterologous expression