



## プラスチック分解酵素結晶の X 線回折計測

中村 彰彦  
静岡大学 農学部

キーワード：プラスチック分解酵素

### 1. 背景と研究目的

我々の生活でもプラスチックなどの人工高分子が大量に使われている。近年ではプラスチック分解酵素の報告がなされ、リサイクルや廃棄物処理への応用が有望視されている。高分子基質は酵素よりも大きいサイズ及び分子量を持ち、水に不溶であることも多い。そのため酵素の基質への吸着及び脱着現象が反応において重要となる。固体基質の表面に適した形状を持ち、相互作用を行いやすいことが吸着において必要である。そこで X 線結晶構造解析により酵素の形状の解析を行う。また、吸着及び脱着速度定数については 1 分子計測技術により実測することができ、生化学的な分解活性の説明を行うことができる。これにより分解活性に重要なアミノ酸残基やドメインの情報を得ることができ、より詳細な議論が可能となる。得られた情報に基づき、酵素の機能を向上させる改変を導入する。

### 2. 実験内容

メタゲノム由来プラスチック分解酵素の単結晶をゴニオメーターにマウントし、窒素冷却下で X 線の回折スポットを計測した。30%グリセロールと 30%エチレングリコールをクライオプロテクタントとして用いて計測を行い、回折スポットの強度について統計解析を行った。

### 3. 結果および考察

プラスチック分解酵素の結晶については、前回の実験から酵素精製条件を変更し再度結晶化条件を検討したことにより、今回は明瞭な回折斑点を得ることができた。統計処理の結果、グリセロールとエチレングリコールをクライオプロテクタントとした計測では、それぞれ最高分解能  $1.7 \text{ \AA}$  と  $1.3 \text{ \AA}$  での回折データを得ることができた(Fig. 1)。現在構造モデルの構築中ではあるが、良質な電子密度データが得られており、信頼性の高い構造データが得られると期待できる。今後は分解活性を上昇させた変異体の結晶を作成し、変異によりどのような構造の変化があるのか解析を行う。

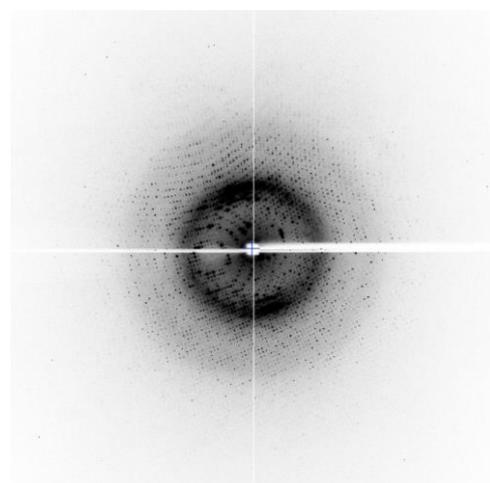


Fig.1 プラスチック分解酵素回折画像例  
(抗凍結剤 30%エチレングリコール)

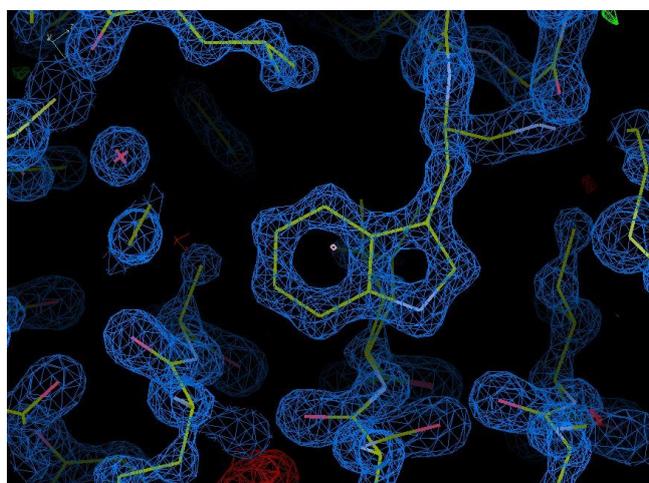


Fig.2 プラスチック分解酵素電子密度マップ  
(抗凍結剤 30%エチレングリコール)