



プラスチック分解酵素変異体結晶の 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、分解活性と耐熱性を向上させた変異体が創出できたため、その結晶構造を明らかにすることで変異がどの様に構造に影響を与えているのか解析する。

2. 実験内容

メタゲノム由来プラスチック分解酵素変異体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%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

前回計測した酵素の結晶で隣り合う分子との相互作用を行っていた残基に変異を導入したため、異なる結晶化条件で結晶を作成した。天然型酵素より回折斑点の強度が弱かったが、統計処理の結果、最高分解能 1.8 Å での回折データを得ることができた。モデルを作成した結果、各種変異のアミノ酸に相当する電子密度が確認できた。また酵素 N 末端側に導入したシステイン残基がジスルフィド結合を形成している様子も確認できた(Fig. 1)。前回計測した酵素の構造と比較することで、耐熱性及び活性が向上した理由をまとめる予定である。

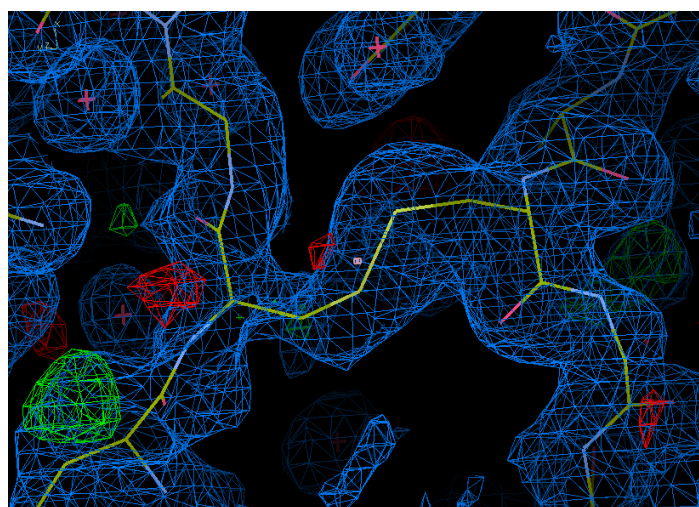


Fig.1 プラスチック分解酵素変異体に導入したジスルフィド結合の電子密度マップ