

酵素というナノ界面をつかったセンサ構築技術

(千葉大院工¹) ○梅野太輔¹

Fabricating biosensors using enzymes as recognition motifs.

(¹Graduate School of Engineering, Chiba University) ○Daisuke Umeno¹

The first step of the enzyme reaction is substrate binding, and it always accompanies the stabilization of the enzyme. We have recently develop a simple workflow to visualize this stabilization upon substrate binding. To do this, we introduce random mutagenesis to the enzyme to moderately de-stabilize it, and then fuse them, in frame, with a reporter gene. The resultant fusion protein cannot fold by itself, but it can fold into functional structure with the aid of the substrate binding (stabilization). This way, any type of enzymes can be rapidly converted into a core component of the sensors.

In this talk, I would report the making and application of a variety of metabolite sensors created by this procedure. Also, I introduce several interesting feature of the resultant sensors based on their unique mechanism-of-action.

Keywords : Directed evolution, molecular devices, enzymes, metabolite sensor, substrate specificity

細胞の中には何千もの代謝物が存在するが、これらすべてを一細胞レベルでリアルタイム解析できるようになれば、細胞の代謝ネットワークのダイナミクスを解像度高く把握することが可能となる。よろづ代謝物に対するバイオセンサーは自然界には存在しないため、一つ一つ、タンパク質工学を駆使して自作するほかなかった。本講演では、酵素をセンサ素材として用いたバイオセンサーの簡便な制作技術を報告する。代謝マップに載っているメタボライトならば、それを基質とする酵素の一つ二つは知られているため、酵素を分子認識素材として流用できる技術があれば、あらゆる代謝物がバイオセンシング可能となる。

我々が注目したのは、酵素反応の最初のステップ、基質認識イベントである。酵素は基質認識に際し、かならず一過的に安定化を受ける。我々は、アミノ酸変異によって適度に不安定化を受けたタンパク質のフォールディングが基質やリガンドに依存するという現象を発見した(1)。この現象をうまく利用することによって、様々な酵素を分子認識界面として用いた、任意の代謝物のセンサーの迅速供給が可能となった。

酵素という分子認識界面のもう一つの特徴は、その高い進化能である。本講演では、この「安定化の可視化」原理で動作するバイオセンサーの例外的に高い機能可塑性についても議論したい。

1) Directed evolution of the stringency of the LuxR *Vibrio fischeri* quorum sensor without Off-state selection. Y. Kimura, S. Kawai-Noma, K. Saito, D. Umeno, *ACS Synth. Biol.* **2020**, 9, 567.