

生体触媒反応の制御に向けた 3 種酵素複合体の作製と効率評価

(群大院理工) ○豆生田 葵衣・神谷 厚輝

Preparation and efficiency evaluation of three-enzyme complexes for controlling biological catalytic reactions (*Graduate School of Science and Technology, Gunma University*) ○Aoi Mameuda, Koki Kamiya

A proximity of enzymes in a cytoplasm causes efficient biological catalytic cascades. Previous studies conducted that multiple enzymes were placed close together in order to emulate the intracellular environment¹. However, the strong chemical bonds between enzymes and linker makes it difficult to control the proximity and separation of enzymes. In this study, we prepared three-enzyme complexes such as β Gal, GOx and HRP which are in close proximity to each other via 3-way junction DNAs. Sizes of the complex were measured by a dynamic light scattering. The improvement of the enzyme efficiency was achieved by the complex. Furthermore, we controlled the proximity and separation of enzymes using RNAs with complementary sequence to the 3-way junction DNAs.

Keywords : Enzyme; ssDNA; DNA hybridization; Bioconjugation

細胞質内では酵素同士の近接に伴い、酵素が触媒する代謝反応は効率よく進む。細胞内環境の再現に向けて酵素同士の近接する様々な試みが行われているが、化学結合を介して高分子鎖によって物理的に近接させる方法¹では、酵素同士の近接と分離における自由な制御は困難である。そこで、我々は高効率かつ制御可能なバイオリアクタの創成を目標とし、温度や pH、塩濃度変化を例とした外部刺激に応答して一本鎖への分離と二本鎖の形成を繰り返す DNA 鎖を利用した酵素複合体の作製を行った。まず、三又構造を有する DNA(t1, t2, t3)を介して三種酵素(西洋ワサビペルオキシダーゼ, グルコースオキシダーゼ, β -ガラクトシダーゼ)が近接した酵素複合体を作製し、動的光散乱法による粒子径分布の測定から酵素の集合を確認した(Fig. 1)。三種酵素が触媒する逐次反応において、非修飾酵素と比較すると、作製した酵素複合体では一定時間経過後の最終生成物の産生量が増加した(Fig. 2)。また、三又 DNA に相補的な配列の RNA の添加と RNaseA による RNA 分解を順に行い、複合化の制御に成功した。

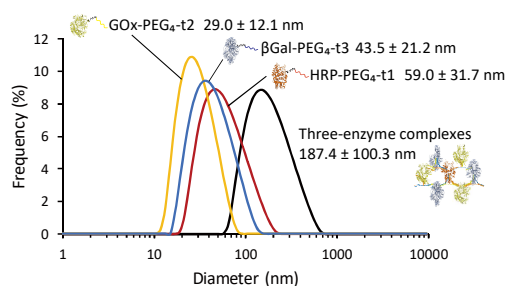


Fig.1 DLS による粒子径測定

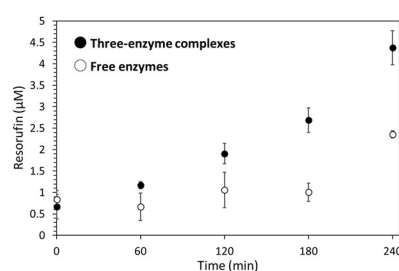


Fig.2 非修飾酵素と酵素複合体の触媒効率

1. Grotzky, A., Nauser, T., Erdogan, H., Schlüter, A. D. & Walde, P. A fluorescently labeled dendronized polymer-enzyme conjugate carrying multiple copies of two different types of active enzymes. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 11392–11395 (2012).