

親水性オリゴペプチド付与による有機溶媒耐性ブロモペルオキシダーゼの開発

(長浜バイオ大バイオサイエンス¹⁾) ○知名 秀泰¹・松浦 拓哉¹・中村 卓¹

Development of organic solvent-tolerant bromoperoxidase by attaching hydrophilic oligopeptides (¹*Faculty of Bioscience, Nagahama Institute of Bio-Science and Technology*)

○Hideyasu China,¹ Takuya Matsuura,¹ Takashi Nakamura¹

An enzymatic method, which can catalytically carry out halogenation using bromide salt and hydrogen peroxide, is an eco-friendly method from the viewpoint of minimizing waste after the reaction. In particular, metal-free bromoperoxidases, which can introduce bromine atom into unsaturated compounds and aromatic compounds, are attractive because they do not require metal ions as a cofactor and remarkably enhance enzymatic activity in a carboxylate-dependent manner. In order to modify this enzyme into a synthetic enzyme with excellent organic solvent-stability, we tried a new approach by attaching hydrophilic oligopeptides, which is different from the conventional strategy. BPO-A1 was the most stable enzyme against 70% (v/v) MeOH among various metal-free bromoperoxidases. Attachment of hydrophilic oligopeptides to the C-terminus of BPO-A1 enhanced organic solvent-stability. Among them, the effect of the basic oligopeptides was remarkable. In addition, we constructed a method attaching His-tag to any hydrophobic surface area of the enzyme using a methionine-selective chemical modification method.

Keywords : *Organic solvent-stability; Hydrophilic oligopeptides; Bromoperoxidase; His-tag; Methionine-selective chemical modification method*

環境中にありふれた臭化物塩とグリーン酸化剤の過酸化水素を用いてハロゲン化を触媒的に行うことができる酵素学的手法は、反応後の廃棄物を最小限に留める観点で環境調和に優れた方法の1つと言える。特に、不飽和化合物や芳香族化合物に臭素原子を導入できる非金属型ブロモペルオキシダーゼは、補因子として金属イオンを要求せず、カルボン酸依存的に酵素活性を著しく高めることができる点で魅力的である¹⁾。ただし、汎用性が求められる有機化学での利用には、有機溶媒安定性に優れた合成用酵素へ改変する必要がある。有機溶媒安定性を高めるこれまでの戦略としては、ランダム変異導入法が主流となっているが、我々は従来法とは異なる新たなアプローチとして、親水性オリゴペプチド付与による酵素改変を試みた。

BPO-A1 は様々な非金属型ブロモペルオキシダーゼの中で 70%(v/v) MeOH に対して最も安定な酵素であった。BPO-A1 の C 末端への親水性オリゴペプチド付与は有機溶媒安定性を高め、その中でも塩基性オリゴペプチドの効果は著しかった²⁾。また、メチオニン選択的化学修飾法³⁾を利用し、酵素表面上の任意の疎水性領域にヒスタグを付与する方法を構築した。

1) H. China, H. Ogino, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2019**, 516, 327. 2) H. China, H. Ogino, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2023**, 640, 142. 3) S. Lin, X. et al., *Science* **2017**, 355, 597.