

## シトクロム P450BM3 近縁種発現 *Bacillus* 属細菌の基質誤認識に基づく非天然水酸化反応

(名大院理) ○伊藤 史哉・有安 真也・唐澤 昌之・Joshua K. Stanfield・笠井 千枝・愛場 雄一郎・荘司 長三

Non-Native Hydroxylation Reactions Based on Substrate-Misrecognition System in *Bacillus* Strains Expressing Homologs of Cytochrome P450BM3 (*Graduate School of Science, Nagoya University*) ○Fumiya Ito, Shinya Ariyasu, Masayuki Karasawa, Joshua K. Stanfield, Chie Kasai, Yuichiro Aiba, Osami Shoji

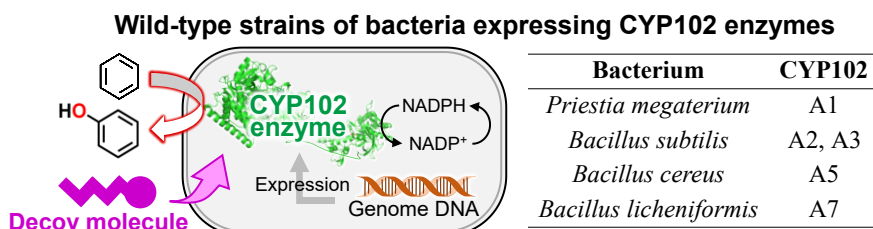
P450BM3 (CYP102A1) from *Priestia megaterium* catalyzes the sub-terminal hydroxylation of long chain fatty acids with high catalytic activity. We developed “the substrate-misrecognition system”, which employs decoy molecules mimicking fatty acids to utilize the enzyme for hydroxylation reactions of non-native substrates including benzene. In addition, we also succeeded in using *P. megaterium* expressing P450BM3 as a whole-cell biocatalyst by simply adding the decoy molecules and non-native substrates.

However, the types of enzymes and bacteria which were applied to this system is still limited. In the present study, we screened 11 bacteria naturally expressing CYP102 enzymes, which are homologs of P450BM3, as whole-cell biocatalysts for benzene hydroxylation reaction in the presence of decoy molecules, and some *Bacillus* strains catalyzed the reaction. In particular, *Bacillus subtilis* showed the highest activity in the presence of an ibuprofen derivative used as a decoy molecule, and the GC yield of phenol reached 2.1 % at optimal temperature.

**Keywords :** Cytochrome P450; Decoy molecule; *Bacillus* strain; Whole-cell reaction; Oxidation reaction

*Priestia megaterium* 由来の P450BM3 (CYP102A1) は、長鎖脂肪酸の亜末端を高効率に水酸化する酵素であるが、当研究室では長鎖脂肪酸を模倣しつつも水酸化されない擬似基質（デコイ分子）を用いた「基質誤認識システム」を開発し、通常進行しないベンゼンなどの非天然基質水酸化に利用してきた<sup>1)</sup>。また、*P. megaterium* そのものにデコイ分子と非天然基質を添加することで菌体内非天然反応も達成している。

ただし、これまで基質誤認識システムに適用された酵素の種類や菌種は限られており、その拡充が有用な系の創出につながると期待される。本研究では P450BM3 の近縁種である CYP102 酵素を発現する細菌 11 種を上記菌体内ベンゼン水酸化反応の可否でスクリーニングし、一部の *Bacillus* 属細菌で目的の反応を達成した。特に *Bacillus subtilis* はイブuproフェン誘導体デコイ分子存在下において最も高い活性を示し、至適温度で反応させるとフェノールの GC 収率が 2.1 %に達した。



1) O. Shoji, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 6606.