

# 大腸菌で発現した マウス酸性哺乳類キチナーゼの特性解析

櫻村 昭徳 大学院化学応用学専攻 / 小山 文隆 工学部 応用化学科 教授

キーワード: キチン, 大腸菌で発現した AMCase の性質

## 概要

我々は、マウス AMCase を、その N 末に Protein A を、C 末に V5 epitope と His タグ を有する Protein A-AMCase-V5-His として発現した(図1)。この大腸菌組換え酵素の性質を明らかにするため、4-nitrophenyl *N, N'*-diacetyl- $\beta$ -D-chitobioside (図2)を基質として、酵素の基本的性質を明らかにした。この組換えマウス AMCase の至適 pH は pH 2.0 で、その条件での至適温度は 54°C だった(図3Aと3B)。この組換え酵素を pH 1.0 から pH 11.0 に氷上で1時間放置しても酵素活性は全く影響を受けなかった(図3C)。さらに、この酵素は pH 2.0 あるいは pH 7.0 で 54°C までの熱安定性を示した(図3D)。

## Protein A-AMCase-V5-His

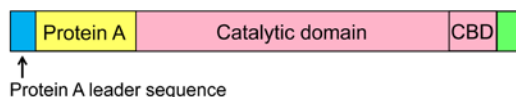


図1. 大腸菌で発現した融合タンパク質の模式図

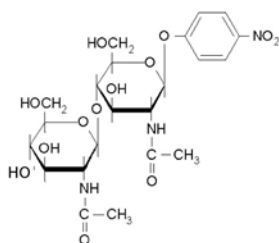


図2. 4-nitrophenyl *N, N'*-diacetyl- $\beta$ -D-chitobioside

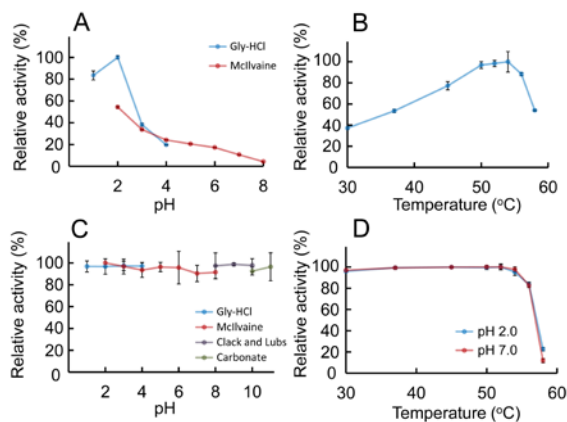


図3. 大腸菌で発現したマウス AMCase の性質

(A) pH 依存性, (B) 温度依存性, (C) pH 安定性, (D) 熱安定性

## アピール ポイント

大腸菌で発現した AMCase は至適 pH が pH 2.0 で、酸性および塩基性条件下で強い安定性を示した。さらに、酸性および中性条件下でも熱に対して比較的安定であった。

## 利用・用途 応用分野

AMCase は喘息の治療ターゲットになりうることを示されている。この酵素の基質特異性と産物の同定を進めることで、阻害剤の開発等につながる。

## 関連情報

- 関連論文: Kashimura, A., Okawa K., Ishikawa, K., Kida, Y., Iwabuchi, K., Matsushima, Y., Sakaguchi, M., Sugahara Y. and Oyama F. (2013) Protein A-mouse acidic mammalian chitinase-V5-His expressed in periplasmic space of *Escherichia coli* possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein. *PLoS ONE* 8: e78669
- 関連URL: <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0078669>