

# 好熱菌チトクローム P450 の電子伝達系の同定及び

## その酵素学的解析

関西学院大学大学院理工学研究科  
生命科学専攻 今岡研究室 萬代 敬生

チトクローム P450 (P450)はヘムを有するモノオキシゲナーゼであり、医薬品や内分泌かく乱化学物質のような脂溶性の外来異物を酸化することで、それらを代謝・解毒する機能を持っている。また、P450 が酸化反応を触媒するためには NAD(P)H などの電子供与体から電子伝達系と呼ばれる一連のタンパク質を介して電子が伝達される必要がある。P450 は有機化学的には酸素を挿入できない部位にも立体特異的に酸素を挿入できることから、医薬品などファインケミカルの合成や環境汚染物質の分解などへの応用が期待されている。しかし、P450 の基質となる物質の多くは疎水性が高いため、通常の酵素が作用する水系では反応系中にわずかしき基質を入れることができず、効率の良い反応系が構築できない。ところが、好熱菌の持つ酵素は一般的に耐熱性だけでなく、有機溶媒に対しても耐性を持つことが知られている。そこで、好熱菌のチトクローム P450 を用いれば、有機溶媒を入れた反応系を構築でき、反応系中に基質を豊富に入れることが可能となるため、効率の良い反応系を構築できる可能性がある。好熱菌のチトクローム P450 に関しては、現在、CYP119 と CYP175A1 が明らかになっているが、本研究で利用しようとしている CYP175A1 については電子伝達系が同定されていないため、高温環境下及び有機溶媒存在下における反応系が構築されていない。このため、本研究ではまず CYP175A1 の電子伝達系を *Thermus thermophilus* の細胞質画分より単離した。その結果、CYP175A1 の電子伝達系は NADPH を電子供与体として利用し、ferredoxin (Fdx) 及び ferredoxin-NAD(P)<sup>+</sup> reductase (FNR) から構成されていることが明らかとなり、さらに、同定した電子伝達系の酵素学的解析を行った。また、CYP175A1 と同定した電子伝達系を融合させた融合酵素を作製し、その酵素学的解析を行った。さらに、CYP175A1 の変異体を作製することで CYP175A1 の基質特異性を変えることを試みた。