

環境とバイオテクノロジー
2020 年度採択研究者

2021年度 年次報告書

千葉 洋子

理化学研究所 環境資源科学研究センター
上級研究員

酵素の K_m 値再考察:最適値を決める因子の探索

§ 1. 研究成果の概要

本研究は、同じ機能を有する酵素が生命進化の過程で複数回独立して誕生した理由を、酵素の動力学的パラメーター、特に酵素と基質の親和性の指標である K_m 値の違いという視点で理解することを目指している。

これまでの研究から、phosphoserine phosphatase (PSP)は同一の起源を有するタイプごとに K_m 値が異なることが示唆されているが、タイプによっては報告例が少なく、本当にタイプごとに取りうる K_m 値の範囲に差があるのか定かではない。そこで、本年度は昨年度作成した大腸菌発現ベクターを用いて PSP を発現し、得られた酵素を精製して K_m 値を測定した。15 生物由来 16 種類の PSP 遺伝子を発現させたところ、14 タンパク質が可溶性画分に得られた。また、内 10 タンパク質 (type 1, 2, 3 それぞれ 3, 4, 3 種類) が PSP 活性を示したので、以降の実験に供した。酵素活性測定は、70℃にて安定性を示す種については 40℃と 70℃で、その他については 40℃で行った。様々な基質濃度での酵素活性(初速度)からミカエリス・メンテンプロットを作成し、 K_m および k_{cat} 値を算出した。結果、由来する生物種によって PSP の K_m 値および k_{cat} 値は 40℃においてそれぞれ 3 桁および 2 桁異なることが明らかになった。また、当初予想されたタイプごとに取りうる K_m 値の範囲に差があるという傾向はみられなかった。一方で、中間的な K_m 値を有する酵素が高い活性を示すという推定については合致する結果が得られた。

本結果から、生体内の代謝酵素の進化選択圧として酵素の K_m 値を小さくする、もしくは k_{cat} 値を最大化することは必ずしも最優先ではないことが示唆された。