

紅藻ミツデソゾ由来ブロモペルオキシダーゼの解析

北海道大学 大学院環境科学院  
環境起学専攻 環境適応科学コース  
湯 暁蓉

【序言】

船底の付着生物対策のために、船底塗料には防汚剤が欠かせないが、これまで使用されてきた有機スズ化合物(TBT, Tributyltin)は国際的にも使用が禁止された。そこで、環境にやさしい新規防汚剤の開発が迫られている。

紅藻ミツデソゾ *Laurencia okamurae* から単離された laurinterol (1) は、タテジマフジツボ幼生付着阻害活性を有し、毒性も低いことから船底あるいは漁網の防汚剤としての開発が期待される。そこで、本化合物をリード化合物としてさらに活性の良好な船底防汚剤の候補物質を生合成酵素の改変により創製するために、1 の生合成酵素の解明を試みることにした。

特に、1 の生合成において最も重要な臭素付加過程に関与するバナジウム依存型ブロモペルオキシダーゼ(VBPO) をクローニングして、組み換えタンパク質の活性を評価した。

【実験】

北海道忍路湾で採集したミツデソゾのゲノム DNA からウラソゾ VBPO 遺伝子の配列を参考に VBPO 遺伝子 (*LoVBPO*) をクローニングした。*LoVBPO* DNA 断片を発現系大腸菌に導入し、組み換えタンパク質を硫酸沈殿と DE52 陰イオン交換クロマトグラフィーで精製した。

得られた *LoVBPO* の濃度を BCA 法で定量後、ハロゲン化反応の標準基質であるモノクロジメドン(MCD) を用いて酵素活性を評価した。さらに、至適 pH 及び温度耐性を調べた。

【結果・考察】

ミツデソゾのゲノム DNA から得られた *LoVBPO* 遺伝子配列をウラソゾ *Laurencia nipponica* 由来 VBPO (*LnVBPO*) と比較したところ、高い相同性を示した。

組み換えタンパク質は、陰イオン交換樹脂で、0.55 M KBr 画分 (A画分) と 0.8 M KBr 画分 (B画分) から精製された。また、精製された組み換えタンパク質はいずれも SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で 69 kDa 付近に単一のバンドとして泳動され、推定アミノ配列からの計算値 70.8 kDa とほぼ一致した。MCD を用いた酵素活性試験の結果、臭素付加活性値は A画分で 180 U/mg protein、B画分で 330 U/mg protein であった。最適 pH は 7.0 でウラソゾ由来 VBPO と同様であった。また、反応至適温度は 45°C であり、35°C から 55°C の範囲で 80% 以上の活性が認められた。

