

# 利用基因工程與固定化改善腈水解酶之特性

蔡佳樺 (5109)

11/09/2016

## 大綱

- 一、前言
- 二、探討 *Thermotoga maritima* MSB8 來源之腈水解酶之選殖、表現及特性
- 三、利用孢子外套蛋白 CotG 作為融合蛋白將 *Thermotoga maritima* MSB8 來源之腈水解酶表現於枯草桿菌孢子表層
- 四、藉由固定化菌體提昇 *Gibberella intermedia* 來源之腈水解酶的催化潛力與基質耐受性
- 五、結論

## 摘要

腈水解酶 (nitrilase) 能水解腈類化合物產生羧酸 (carboxylic acid) 與氨，其中羧酸可作為許多藥品之前驅物，具有高附加價值。本篇報告首先探討由 *Thermotoga maritima* MSB8 選殖出之腈水解酶特性，*Thermotoga maritima* MSB8 來源之腈水解酶的最適作用溫度及 pH 值分別為 45°C、7.5，於 75°C 下之酵素半衰期約為 30 分鐘。後續藉由孢子外套蛋白 CotG 接合 *Thermotoga maritima* MSB8 來源之腈水解酶共表現於枯草桿菌孢子表層，期待能增加重複利用性與酵素穩定性。在孢子表現之腈水解酶於 75°C 下之酵素半衰期為未以孢子表現之腈水解酶的 5 倍，當枯草桿菌孢子於最適作用條件下重複反應 5 次後，每顆孢子仍保有 80% 以上的腈水解酶相對酵素活性。另外，利用海藻酸鈉將具有腈水解酶之 *Gibberella intermedia* 菌體以包埋法 (entrapping) 進行固定化，固定化菌體的酵素半衰期為未固定化之菌體的 1.6 倍且其產物轉換率於 500 mM 之基質濃度下仍可達 100%，與未固定化之菌體相比具有較高之基質濃度耐受性；當固定化菌體於最適反應條件下連續反應 28 批次後仍具有 80% 的酵素相對活性。綜合上述結果，不論是藉由枯草桿菌孢子表現腈水解酶或以海藻酸鈉為基材將菌體進行固定化皆能有效增加腈水解酶之酵素穩定性與重複利用性，於未來產業生產羧酸上具有優勢。