

# L-精胺酸脫亞胺酶之純化與特性探討

黃培騏 (5109)

2024/2/21

## 大綱

一、前言

二、產黃青黴菌的L-精胺酸脫亞胺酶之純化與特性探討。

三、奧氏嗜熱鹽絲菌之重組精胺酸脫亞胺酶的特性及其在瓜胺酸生產的運用。

四、戀臭假單胞菌精胺酸脫亞胺酶的純化與特性探討：L-精胺酸相似物差別親和力的結構見解。

五、結論

## 摘要

L-瓜胺酸於醫療保健產業具不可忽視的商業價值，L-精胺酸脫亞胺酶 (L-arginine deiminase, ADI, EC 3.5.3.6) 不可逆地可催化精胺酸(arginine)水解為氨和L-瓜胺酸(citrulline)；據臨床研究證明，ADI為有前景的抗癌酵素，故對ADI的酶促生物合成研究有其價值。

自產黃青黴菌 (*Penicillium chrysogenum*)以 85%硫酸銨(ammonium sulfate)、DEAE-纖維素(二乙基氨基乙基纖維素)和 Sephadex G200中純化ADI (PE-ADI)後，其純化率為17.2倍、產率為4.6%、比活性則為50 Umg<sup>-1</sup> protein，而分子量為49 kDa，而PE-ADI在最適溫度40°C及最適pH 6.0時表現出最大活性。

自奧氏嗜熱鹽絲菌 (*Halothermothrix orenii*)之ADI(H-ADI)在大腸桿菌 (*Escherichia coli*) BL21(DE3)中表達，在55°C，pH 6.5下比活性為91.8 Umg<sup>-1</sup> protein；在45°C下熱處理180分鐘後，此酵素的相對活性仍保持在74%，但在50°C下則僅剩25%，其熔點為56°C。H-ADI並不是一種需要金屬的酵素，添加了Ni<sup>2+</sup>僅略微提高催化活性。精胺酸的K<sub>m</sub>和V<sub>max</sub>分別為55.5 mM和156.8 μmol/min/mg protein。另透過丙胺酸掃描突變(alanine-scanning mutagenesis)分析後，發現三個殘基 (Arg183、Arg237和His273) 是L-瓜胺酸形成的關鍵。最終在50°C下進行酵素合成產生出L-瓜胺酸，其轉化率高達99.03%。

自戀臭假單胞菌 (*Pseudomonas putida*)以硫酸銨沉澱、陰離子交換和疏水性層析法純化精胺酸脫亞胺酶(PS-ADI)。該酵素對硫醇結合金屬離子、作用於巰基的化學物質及多數界面活性劑表現出高敏感性。L-精胺酸類似物中，刀豆胺酸(Canavanine)對ADI的親和力最高，其次是D-精胺酸和胍(guanidine)。刀豆氨酸及D-精胺酸各在最低及最高測試濃度 (10 mM及200 mM) 時之ADI 活性分別降低至50%及至~4%。L-精胺酸與殘基Asn160、Asp166、Arg185、Arg243、Asp280和Gln399形成的強氫鍵在D-精胺酸和刀豆胺酸中被保留，因此也對PS-ADI 具較高親和力。

1 參考文獻

- 2 **EI-Shora, H. M., EI-Zawawy, N. A., Abd EI-Rheem, M. A., & Metwally, M. A..**  
3 **Purification and characterization of L-arginine deiminase from *Penicillium***  
4 ***chrysogenum*. BMC Microbiology, Volume 24, Article number 44, 31 January 2024.**  
5  
6 **Patil, M. D., Rathod, V. P., Bihade, U. R., & Banerjee, U. C.. Purification and**  
7 **characterization of arginine deiminase from *Pseudomonas putida*: Structural**  
8 **insights of the differential affinities of L-arginine analogues. Journal of Bioscience**  
9 **and Bioengineering, Volume 127, Issue 2, Pages 129-137, February 2019**  
10  
11 **Wang, W., Li, M., Miao, M., & Zhang, T.. Characterization of a recombinant arginine**  
12 **deiminase from *Halothermothrix orenii* and its application in citrulline production.**  
13 **IUBMB Journals, Biotechnology and Applied Biochemisrty, Volume 70, Issue 2,**  
14 **Page 526-536, 27 June 2022.**