

1 評估使用蛋白質支架系統對於不同酵素之比活性及穩定性影響

2 黃乙淇 (5121)

3 2024/03/13

4 大綱

- 5 一、前言
- 6 二、開發用於酵素快速固定化和最適化生物催化功能之蛋白質支架系統
- 7 三、透過 SpyTag/SpyCatcher 環化提高鹼性果膠酶 PEL3 之比活性和穩定性
- 8 四、透過雙硫鍵的建構和主鏈環化增強胺裂解酶的熱穩定性和催化能力
- 9 五、結論

10 摘要

11 酵素具有不穩定、無法重複使用且受限於反易環境等缺點，為了符合工業需求而選
12 擇將酵素固定化，常見的固定化方式為將酵素固定在固體載體上，這可以延長反應的壽
13 命和性能，而這可能需要因應酵素本身結構或特性選擇其適合的固定化方式。本次報告
14 主要在探討透過 SpyCatcher/SpyTag 系統是否能改善酵素在使用上的缺點，根據結果表
15 明，來自不同同源物的 Ethanolamine utilization microcompartment protein (EutM) 組成蛋
16 白質支架結構對於酵素催化活性有不同程度提升，其中 EutM (SE)-SpyCatcher 上含有
17 Spy-Tag 的乙醇去氫酶 (Aldehyde dehydrogenase, ADH) 在培養 48 小時後，剩餘最高的
18 比活性，相較無 EutM-SpyCatcher 時的 SpyTag-ADH 的比活性高 1.1 倍；環化果膠裂
19 解酶 (Pectate lyase, C-PEL3) 較游離果膠酶 (W-PEL3) 對聚半乳糖醛酸
20 (Polygalacturonic acid, PGA) 表現出高水平的催化效率及熱穩定性。在酵素動力學方面，
21 雖然 C-PEL3 對 PGA 的 K_m 值較低，但 k_{cat}/K_m 值為 W-PEL3 的 1.5 倍，表示對 PGA
22 的轉化效率相對較高。插入雙硫鍵與環化方式對於甲基天門冬胺酸裂解酶
23 (Methylaspartate ammonia-lyases, MAL) 在熱穩定性測試及動力學分析與野生型相比都
24 有顯著提升，表示此方法對於酵素熱穩定性有正向的效果，也透過圓二色光譜及分子動
25 力學模擬進一步檢視熱穩定性提高的原因，成功透過組合雙硫鍵修飾與酵素環化兩種修
26 飾以提高酵素的熱穩定性。綜合三篇文獻結論，透過 SpyCatcher/SpyTag 系統成功固定
27 化不同酵素，並在熱穩定性及催化活性上都有良好的提升，提供酵素工業新的發展方向。

參考資料

- 1
2 Du, C., Tan, S. Q., Liu, L., Zhou, Y. L., Wu, P., & Zhang, G. M. (2023). Improving the specific
3 activity and stability of alkaline pectinase PEL3 through SpyTag/SpyCatcher
4 cyclization (vol 45, pg 847, 2023). *Biotechnology Letters*, 45(9), 1245-1247.
- 5 Ni, Z. F., Li, N., Xu, P., Guo, Z. W., Zong, M. H., & Lou, W. Y. (2022). Enhancement of
6 thermostability and catalytic properties of ammonia lyase through disulfide bond
7 construction and backbone cyclization. *International Journal of Biological*
8 *Macromolecules*, 219, 804-811.
- 9 Zhang, G. Q., Johnston, T., Quin, M. B., & Schmidt-Dannert, C. (2019). Developing a protein
10 scaffolding system for rapid enzyme immobilization and optimization of enzyme
11 functions for biocatalysis. *Acs Synthetic Biology*, 8(8), 1867-1876.