

## 一種可製造具有雙酵素活性之融合蛋白質的新穎方法

陳妍菁<sup>1</sup>, 林莉鈞<sup>1</sup>, 姜中人,<sup>2,\*</sup> 趙雲鵬<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>逢甲大化工系

<sup>2</sup>中國醫藥大學醫技系

E-mail: oleosin91@yahoo.com.tw; ypchao@fcu.edu.tw  
NSC 102-2622-E-035-005-CC1; 101-EC-17-A-10-S1-156

### 摘要

賦予酵素一種嶄新或改良的活性可謂是蛋白質工程的主要目標之一，為達此目標，最基本的操作就是將兩種不同的基因融和，致使所生產的融合蛋白質具有較原來的蛋白質更佳的動力學性質。不過，當蛋白質本身是多元的結構時，融合後蛋白質的結構將更形複雜，導致融合蛋白質不易在細菌中表現生產，而且蛋白質的摺疊往往受到限制，最終難以形成可溶物。

D-p-Hydroxyphenylglycine (D-HPG)為一種非天然的胺基酸，這種具光學活性的氨基酸可作為一種半合成抗生素的前驅物。D-HPG 可以由 D,L-hydroxyphenly hydantoin (HPH) 藉由 D-hydantoinase (HDT) 和 D-amidohydrolase (AHL) 酵素反應而得。在這項研究中，我們企圖將 HDT 和 AHL 進行基因融合，以期製造出一種具有雙酵素活性的融合蛋白質，不過此做法卻導致融合蛋白質 AHL-HDT 在大腸桿菌內形成不可溶物。為了解決這個問題，我們將 AHL 和 HDT 基因分別先與 cohesin (Coh) 和 dockerin (Doc) 基因融合，接著將兩種融合基因在大腸桿菌內共同表現生產，結果發現兩種融合蛋白質(即 AHL-Coh 和 HDT-Doc)可各自形成可溶性蛋白，最後經由 Coh 和 Doc 之間的高親和力，使得 AHL-Coh 和 HDT-Doc 融合成一個蛋白質複合物。進一步實驗顯示，AHL-Coh 和 HDT-Doc 蛋白質複合物的反應速率是 AHL 和 HDT 的 1.6 倍，當以全細胞來進行 D-HPG 的轉化反應，含有 AHL-Coh 和 HDT-Doc 蛋白質複

合物的細胞可以重複使用 6 次，且 D-HPG 的轉化率高達 90% 以上。這些結果顯示，在此提議的策略是一種可替代傳統融合蛋白質操作的有效方法。

關鍵字：融合蛋白、cohesin、dockerin

論文主題： 生化及生醫工程

報告型式： 海報競賽 (poster competition)