



**Title:** Fusion proteins of organophosphorus hydrolase and pHluorin for a whole-cell biosensor for organophosphorus pesticide measurement

(農薬を検出する微生物バイオセンサーのための農薬分解酵素と pHluorin の融合タンパク質)

**Authors:** Yusei Hoyano, Issa Tamashiro and Takuo Akimoto

(保屋野祐星 (東京工科大 大学院生 現 会社員)、玉城一佐 (東京工科大 大学院生)

秋元卓央 (東京工科大 教授) )

**Journal:** Analytical Science

**掲載年月:** 2023 年 9 月

**研究概要:** 有機リン系農薬を測定する微生物バイオセンサーの開発を行うために、有機リン系農薬加水分解酵素 (OPH)と pH 感受性蛍光タンパク質である pHluorin の融合タンパク質の開発を行った。このとき、融合する順番を交代した 2 種類と、タンパク質間にリンカーを含む合計 4 種類の融合タンパク質を作製し、それぞれの特性を評価し比較した。この結果、OPH-linker-phluorin の順番が最適で 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  のパラオキソンが測定できることが示された。

**研究背景:** 有機リン系農薬は世界中で広く使用される農薬であるが、土壌への残留の問題や生物兵器としての使用などが問題となっている。そこで、有機リン系農薬を簡単に測定できる微生物を利用したバイオセンサーを開発することを試みた。これを開発するために、有機リン系農薬加水分解酵素 (OPH) と pH 感受性蛍光タンパク質である pHluorin の融合タンパク質の作製をおこなった。融合タンパク質は融合する順番やタンパク質間の距離で活性が変化するので (図 1) に示す 4 種類の融合パターンを作製し、それぞれの特性を評価した。

**研究成果:** OPH、pHluorin それぞれの活性を 4 種類の融合タンパク質を発現した大腸菌を用いて評価した。この結果、pHluorin-OPH、の順で融合したタンパク質のほうが OPH と pHluorin とともに活性が高いことが示された。一方、Linker が活性に与える影響はわずかであった。これらの結果より、pHluorin-linker-OPH を最適な融合タンパク質としてパラオキシソンの測定を行ったところ、検出限界が 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であることがわかった (図 2)。

**社会への影響:** 農薬による汚染だけでなく、有機リン系の毒ガスの検知にも利用できるため、さらに測定感度を向上すれば環境や安全への応用が期待できる。

**専門用語:**

**有機リン系農薬加水分解酵素:** 一部の原核微生物が持つ加水分解酵素で、有機リン系農薬を分解するとプロトンが生成し系を酸性にする。

**pHluorin:** 蛍光タンパク質 GFP の改変型で、pH によって蛍光の強さが変化する特性をもち、アルカリ性では明るく、酸性では暗くなる性質を有する。

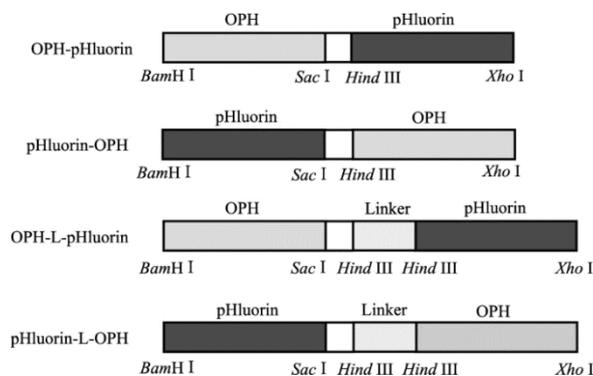


図 1 : Schematic structure of fusion proteins.

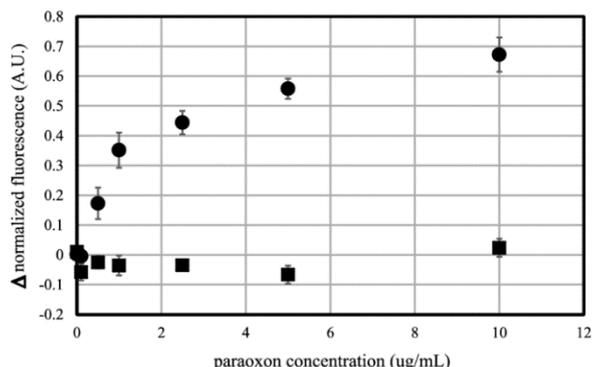


図 2 : Calibration curve for paraoxon concentration.