

プログラム名：豊かで安全な社会と
新しいバイオものづくりを実現する人工細胞リアクタ
PM名：野地 博行
プロジェクト名：「つくる」人工細胞リアクタ

委 託 研 究 開 発
実 施 状 況 報 告 書 (成 果)
平 成 29 年 度

研究開発課題名：

タンパク質構造の合理的安定化手法の開発： β グルコシダーゼの耐熱化

研究開発機関名：

自然科学研究機構分子科学研究所

研究開発責任者：

古賀 信康

I 実施期間における計画と成果

1. 担当研究開発課題の目標と計画

(目標)

これまでに我々が実施したタンパク質構造のデノボデザインの研究により、タンパク質構造の安定性には局所および非局所相互作用が整合して折りたたみ後の構造が安定化されていること（整合性原理）が重要であることが分かっている。そこで、安定化するターゲット分子の立体構造に基づいて、この整合性原理をみたすアミノ酸配列を計算機上で探索する手法を開発することが第1の目標である。さらに、開発した計算手法と生化学実験を用いてバイオマス変換に用いられる酵素であるβグルコシダーゼを耐熱化することが第2の目標である。

(計画)

- 1) タンパク質構造耐熱化のための理論計算技術の開発
 - A) 局所相互作用を安定化するアミノ酸配列の探索手法の開発
 - B) 局所および非局所相互作用両方を安定化するアミノ酸配列の探索手法の開発
- 2) ターゲットのβグルコシダーゼと好熱菌βグルコシダーゼと構造・配列を比較し安定化に寄与する変異を特定
- 3) βグルコシダーゼの耐熱化（耐熱化、酵素活性）

2. 担当研究開発課題の達成状況と成果

2-1 達成状況

- 1) A) アルゴリズムの開発をほぼ終了した。
B) アルゴリズムの開発を現在のところほぼ終了した。開発した手法を用いてβグルコシダーゼを安定化するアミノ酸配列を予測し、課題2F（東京大学）に予測配列を手渡した。
- 2) 好熱菌βグルコシダーゼとの構造および配列比較を行い、アライメントを作成した。アライメント結果を詳細に解析し、安定化に寄与する部位を推定した。
- 3) 大腸菌を用いて、βグルコシダーゼを安定化すると予想されるアミノ酸の変異体を作成し生化学実験を実施、耐熱化に寄与するアミノ酸変異を特定する。変異体の作成については、課題2F（東京大学）が担当することとなった。

2-2 成果

開発したアルゴリズムに基づいて、βグルコシダーゼ耐熱化に寄与すると期待される部位23箇所、アミノ酸変異36個を予測した。

3. アウトリーチ活動報告

なし。