

原子・分子の自在配列と特性・機能
2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

中野 祥吾

静岡県立大学 食品栄養科学部
准教授

離散的配列ブロックに基づく人工タンパク質配列自在設計技術の開発と応用

§ 1. 研究成果の概要

昨年度から継続して、離散的配列ブロックを予測するための手法開発を行った。2021年度は各サブファミリーにて高度かつ独立に保存されているアミノ酸残基ペア、いわゆる相関残基を数学的に同定可能なアルゴリズムを完成させた。第二に上記計算において発生した、各残基間の相関係数から出力された2次元相関マップをネットワーク理論に基づいて解析することで、相関残基 (node) の間にエッジを結んだ相関ネットワーク内に隠されたクラスター (配列ブロック) を発見可能なアルゴリズムを開発した。これら2つのアルゴリズムを統合し、配列ブロックに基づいてデータベース上の膨大な配列を機能ごとに分類可能な新規ソフトウェアを開発した。

ソフトウェアの応用として、新規 L-アミノ酸酸化酵素 (LAAO) の探索と設計を行った。これまでに設計した L-Lys 酸化酵素 (文献 1) に加え、超耐熱化 L-アミノ酸酸化酵素 (HTAncLAAO) のデザインに成功した。HTAncLAAO の酵素学的諸性質を明らかにするとともに、本酵素が D-アミノ酸誘導体の光学分割に適用可能なことを証明した (文献 2, ChemistryViews にハイライト)。具体的には3種類のラセミ体アミノ酸を高い光学純度 (>99%) かつ収率 (>85%) で、分取スケールにて D 体に分割できることを確かめた。本ソフトウェアは新規 LAAO の発見だけでなく、高機能化 L-グルタミン酸脱炭酸酵素の設計 (文献 3, 表紙に採択) や L-Thr からピラジン骨格を有する化合物を合成可能な新規 PLP 依存型酵素の探索 (文献 4) にも生かされている。

これまでの開発で得られた計算科学的および実験科学的知見を活かし、本年度も複数の産学連携による共同研究を実施した。計算化学解析によるタンパク質構造解析に関する共同研究 (文献 5) に加え、複数の高機能化人工タンパク質配列設計に関する研究が継続している。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Reconstruction of hyper-thermostable ancestral L-amino acid oxidase to perform deracemization to D-amino acids”, *ChemCatChem*, vol. 13, No. 24, pp.5228-5235, 2021
- 2) “Catalytic Mechanism of Ancestral L-Lysine Oxidase Assigned by Sequence Data Mining”, *J. Biol. Chem.*, vol. 297, No. 3, 101043, 2021
- 3) “Design of a full-consensus glutamate decarboxylase and its application to GABA biosynthesis”, *ChemBioChem*, in press, 2021
- 4) “Chemoenzymatic synthesis of 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine by L-threonine 3-dehydrogenase and 2-amino-3-ketobutyrate CoA ligase/L-threonine aldolase”, *Commun. Chem.*, vol.4, 108, 2021
- 5) “The transcriptional corepressor CtBP2 serves as a metabolite sensor orchestrating hepatic glucose and lipid homeostasis”, *Nat. Commun.*, vol. 12, 6315, 2021