

原子・分子の自在配列と特性・機能
2020年度採択研究代表者

2022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

研究成果の概要

昨年度から引き続き、離散的配列ブロック予測法の開発を行った。2022年度には、2021年度に完了したターゲットタンパク質とそのホモログ配列の解析から相関残基を抽出し、相関残基間をエッジで結んだ相関ネットワークを作成、その中に隠されたクラスター(離散的配列ブロック)を同定するアルゴリズムを用いた高機能化タンパク質配列設計ツールの開発と、新素材としての人工タンパク質配列のデザインを行った。

本年度に達成した、新素材としての人工タンパク質配列の設計成功例として以下2点が挙げられる。第一に、これまでとは異なる配列及び反応機構を有する第4のL-リシン酸化酵素(LLysO2)のデザインに成功した。LLysO2は従来型のL-リシン酸化酵素と同様に、L-Lysに対する高い特異性を有しており、かつ副反応としてモノオキシゲナーゼ活性を示さないことを証明した。本酵素の反応機構をX線結晶構造解析により推定するとともに変異体の酵素学的諸性質の解明を行い、得られた結果をまとめて論文として報告した(文献1)。また企業との共同研究を通して、祖先型RNAリガーゼ(AncT4_2)の開発に成功した。AncT4_2は天然型RNAリガーゼと比べて安定性、生産性並びに基質選択性に優れていることが明らかとなった。本酵素は核酸医薬品の大量合成を可能にするなど、産業界への貢献が期待される(文献2)。

配列ブロックの組合せ最適化問題を解決し、高機能化人工タンパク質を設計するための新手法の開発を完了した。最適化には遺伝的アルゴリズムを採用した。現在、3種類の異なる酵素に本法を適用し、良好な結果を得ている。これら実験データとアルゴリズム詳細をまとめて成果公開に向けた手続きを進めている。

これまでの開発で得られた計算科学の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3, 5)や核内受容体の構造機能解析を達成するなど(文献4)、本課題から派生した成果が得られつつある。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Reaction Mechanism of Ancestral l-Lys α -Oxidase from *Caulobacter* Species Studied by Biochemical, Structural, and Computational Analysis”, Tomoharu Motoyama, Yuta Yamamoto, Chiharu Ishida, Fumihito Hasebe, Yui Kawamura, Yasuteru Shigeta, Sohei Ito, and Shogo Nakano, *ACS Omega*, vol. 7, No. 48, pp.44407-44419, 2022
- 2) “Enzymatic Conjugation of Modified RNA Fragments by Ancestral RNA Ligase AncT4_2”, Shohei Kajimoto, Miwa Ohashi, Yusuke Hagiwara, Daisuke Takahashi, Yasuhiro Mihara, Tomoharu Motoyama, Sohei Ito, and Shogo Nakano, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 88, No. 23, e01679-22, 2022
- 3) “Dynamical interaction analysis of proteins by a random forest-fragment molecular orbital (RF-FMO) method and application to Src tyrosine kinase”, Yuta Yamamoto, Shogo Nakano, and Yasuteru Shigeta, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, vol. 96, No. 1, pp. 42-47, 2023
- 4) “Ligand Screening System for the RXR α Heterodimer Using the Fluorescence RXR Agonist CU-6PMN”, Mayu Kawasaki, Tomoharu Motoyama, Shoya Yamada, Masaki Watanabe, Michiko Fujihara, Akira Kambe, Shogo Nakano, Hiroki Kakuta, and Sohei Ito, *ACS Medicinal Chemistry*

Letters, vol. 14, No. 3, pp. 291-296, 2023

- 5) “Definition of an Index Parameter to Screen Highly Functional Enzymes Derived from a Biochemical and Thermodynamic Analysis of Ancestral meso-Diaminopimelate Dehydrogenases”, Hayato Araseki, Mayu Kawasaki, Akira Kambe, Kohei Kozuka, Sohei Ito, and Shogo Nakano, *ChemBioChem*, e202200727, 2023.