

環境とバイオテクノロジー
2020年度採択研究者

2021年度 年次報告書

二井手 哲平

大阪大学 大学院情報科学研究科
助教

構造情報に基づいた in silico 酵素改変が先導するスマート代謝経路設計

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、医薬品の原料となる種々の低分子化合物を環境低負荷な微生物発酵により生産するため、微生物の代謝経路を設計・最適化することを目的としている。特に、代謝フラックスに基づく代謝反応予測とタンパク質構造モデリングによる合理的な酵素機能設計を組み合わせ、汎用的かつ統一的な代謝経路設計プロセスの提案に取り組んでいる。

昨年度に実施した、非標準アミノ酸生合成経路に関わる酵素群の調製と機能評価の結果より、酵素の機能改善に進化情報が利用できる可能性が示唆された。そこで本年度は、当初からの目的であった代謝経路の強化に向けた進化実験による酵素同時進化手法の開発に加え、進化情報と合理的設計を組み合わせた酵素設計に取り組んだ。酵素設計に関しては酵素の耐熱化および基質特異性のスイッチング、代謝経路設計に関しては非標準アミノ酸の濃度に依存して機能性タンパク質が発現する実験室進化系の構築に取り組んだ。特に、酵素設計に関しては、進化情報を取り入れることで、膨大なタンパク質の探索空間から変異導入位置および変異候補アミノ酸を効率的に絞り込めることが分かった。基質特異性の変換はリンゴ酸酵素の補酵素特異性の改変に取り組み、スクリーニング無しに補酵素特異性を完全に切り替えることに成功した。