

立体構造を基盤とした酵素の探索と改変

生体分子化学
およびその関連分野

研究者所属・職名 : 医学部・准教授

ふりがな ふじはし まさひろ

氏名 : 藤橋 雅宏

主な採択課題 :

- [基盤研究\(B\)「立体構造を基にしたピロリン酸依存性リン酸化酵素の大量同定と改変」\(2021-2023\)](#)
- [新学術領域研究\(研究領域提案型\)「立体構造を基にした生合成酵素の探索ならびに機能の解析と改変の新展開」\(2019-2020\)](#)
- [新学術領域研究\(研究領域提案型\)「新規酵素の立体構造を基にした、有用酵素のマイニングと機能改良」\(2017-2018\)](#)

分野 : 構造生物学、酵素学

キーワード : 立体構造、酵素反応、リン酸化

課題

● なぜこの研究をおこなったのか？ (研究の背景・目的)

酵素反応は環境に優しい温和な条件下で進行し、SDGs に適合したグリーンケミストリーとの親和性も高い。酵素を含む様々なタンパク質のアミノ酸配列が登録されているデータベースには現在数億のエントリーが存在するが、アミノ酸残基の配列情報のみが登録され、そのタンパク質の役割 (機能) は不明であることも非常に多い。このデータベースからの目的反応を触媒する酵素の探索や、見いだした酵素の機能改変は、酵素反応をより広範に利用する上で極めて重要である。

● 研究するにあたっての苦労や工夫 (研究の手法)

多数存在する酵素反応のうち、リン酸化反応に注目した。一般に生体内におけるリン酸化は ATP をリン酸源とするが、ごく稀にピロリン酸をリン酸源とする酵素も存在する。ピロリン酸は ATP より 3桁安価であるため、ピロリン酸を利用する酵素は産業的な利用価値を持つ。ATP を利用する酵素とピロリン酸を利用する酵素のアミノ酸配列上の違いはわずかで検出は難しいため、立体構造情報を手掛かりとした目的酵素の探索や機能改変を目指した。



図1 酵素の立体構造の一例

立体構造を基盤とした酵素の探索と改変

生体分子化学
およびその関連分野

研究成果

●どんな成果がでたか？どんな発見があったか？

はじめに、ATP を用いてイノシトールをリン酸化する酵素 (ATP-InsK)、ならびにピロリン酸を用いてイノシトールをリン酸化する酵素 (PPi-InsK) の両者について、酵素基質複合体の結晶構造を決定した。これによりそれぞれの酵素が ATP やピロリン酸を利用する上で鍵となるアミノ酸残基を同定した。続いてアミノ酸配列データベースに登録されたリン酸化酵素の中から、同定したピロリン酸利用の鍵となる残基を持つ酵素を探した。その結果、それまで知られていなかったピロリン酸を利用するリン酸化酵素を新たに複数見だし、立体構造情報を参考にした酵素探索方法の有効性を立証した。更に、PPi-InsK と異なるピロリン酸利用の鍵残基を持つ酵素についても、類似の手法で複数発掘している。

また上述の ATP-InsK はイノシトールの 3 位 OH を、PPi-InsK はイノシトールの 1 位 OH をリン酸化する酵素である。これら 2 つの酵素のイノシトール認識部位の立体構造を詳細に観察し、両者のイノシトール認識部位を入れ替えることで、ピロリン酸によってイノシトールの 3 位をリン酸化する改変酵素の構築にも成功した。

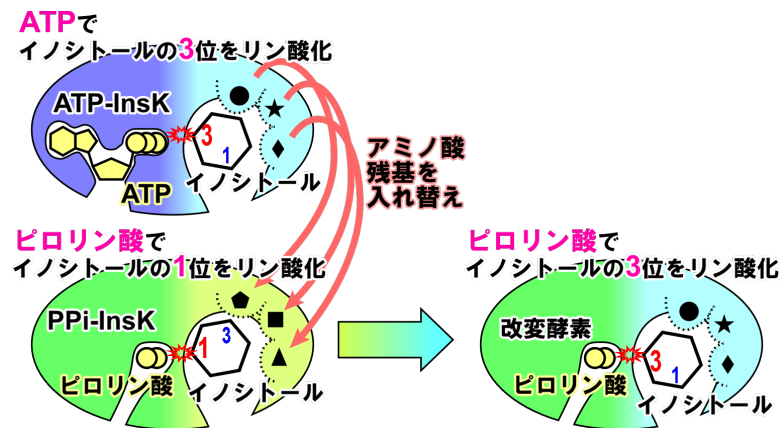


図2 立体構造を基にした酵素の改変

今後の展望

●今後の展望・期待される効果

近年、AlphaFold2 を始めとして機械学習をベースにタンパク質の立体構造を予測するソフトウェアの開発が急速に進行している。このAlphaFold2 を利用して、アミノ酸配列データベースに存在する全てのタンパク質の立体構造を予測したデータベースの整備も進んでいる。我々が研究してきた立体構造を基盤とした酵素の機能予測手法と、AlphaFold2 等による予測立体構造の組み合わせにより、アミノ酸配列データベースに眠る機能未知遺伝子の活用が更に進むと期待できる。