

研究シーズの概要

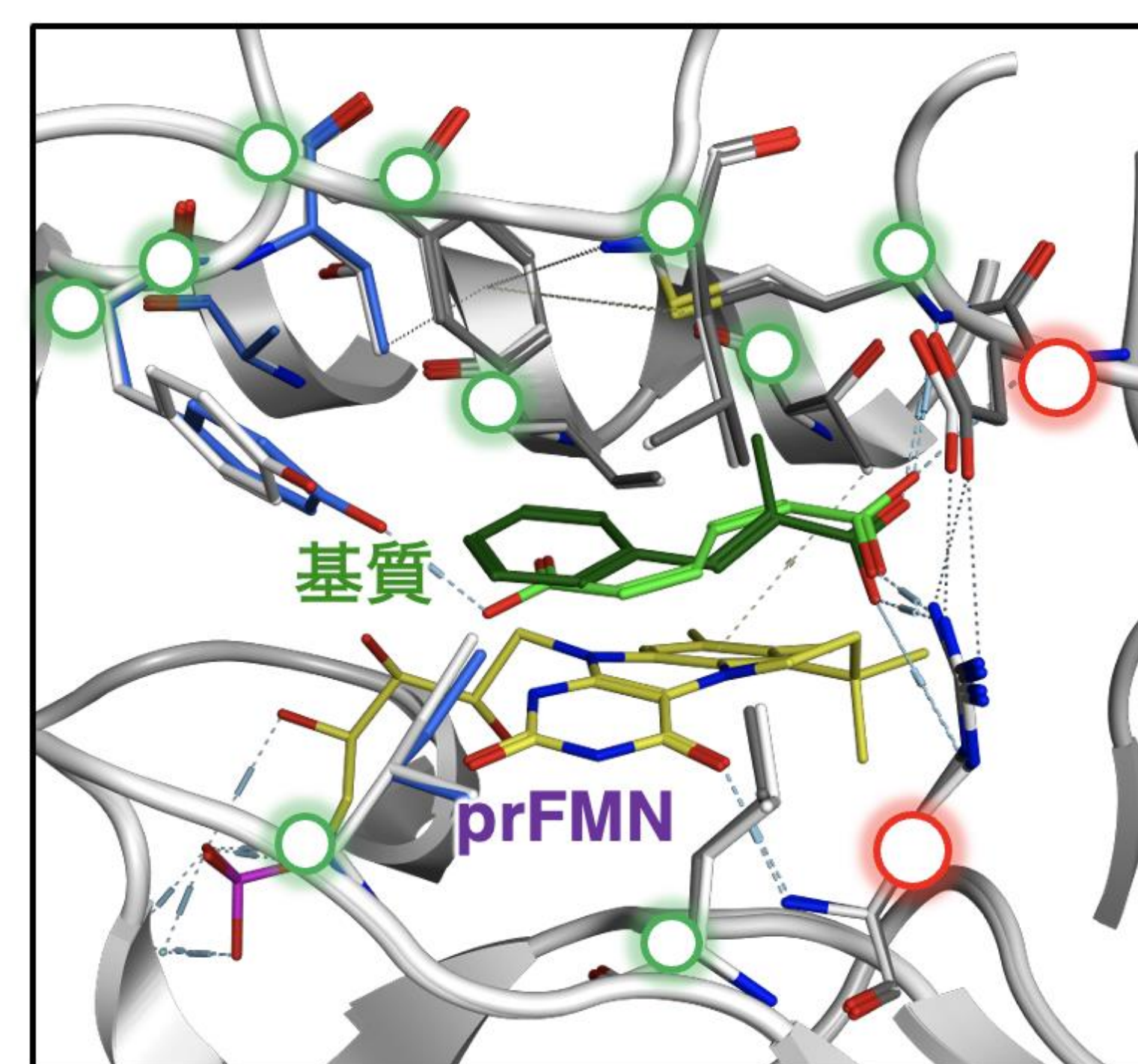
持続可能社会の実現に向け、バイオマスから物質生産を可能にするバイオリファイナリーに関する研究が精力的に進められている。これまで、物質生産菌に異種由来の酵素を導入することで、目的化合物の生合成を達成した報告が多くなされている。こうした中で、酵素に改変を加えることにより、**新規の人工代謝経路**（野生型酵素では本来基質として認識しない化合物を標的とする触媒反応経路）の実現の強く望まれている。

本研究では**非天然化合物の生産に向けた酵素変異体の合理的設計の確立**に向けた検討を行っている。

研究シーズの特徴

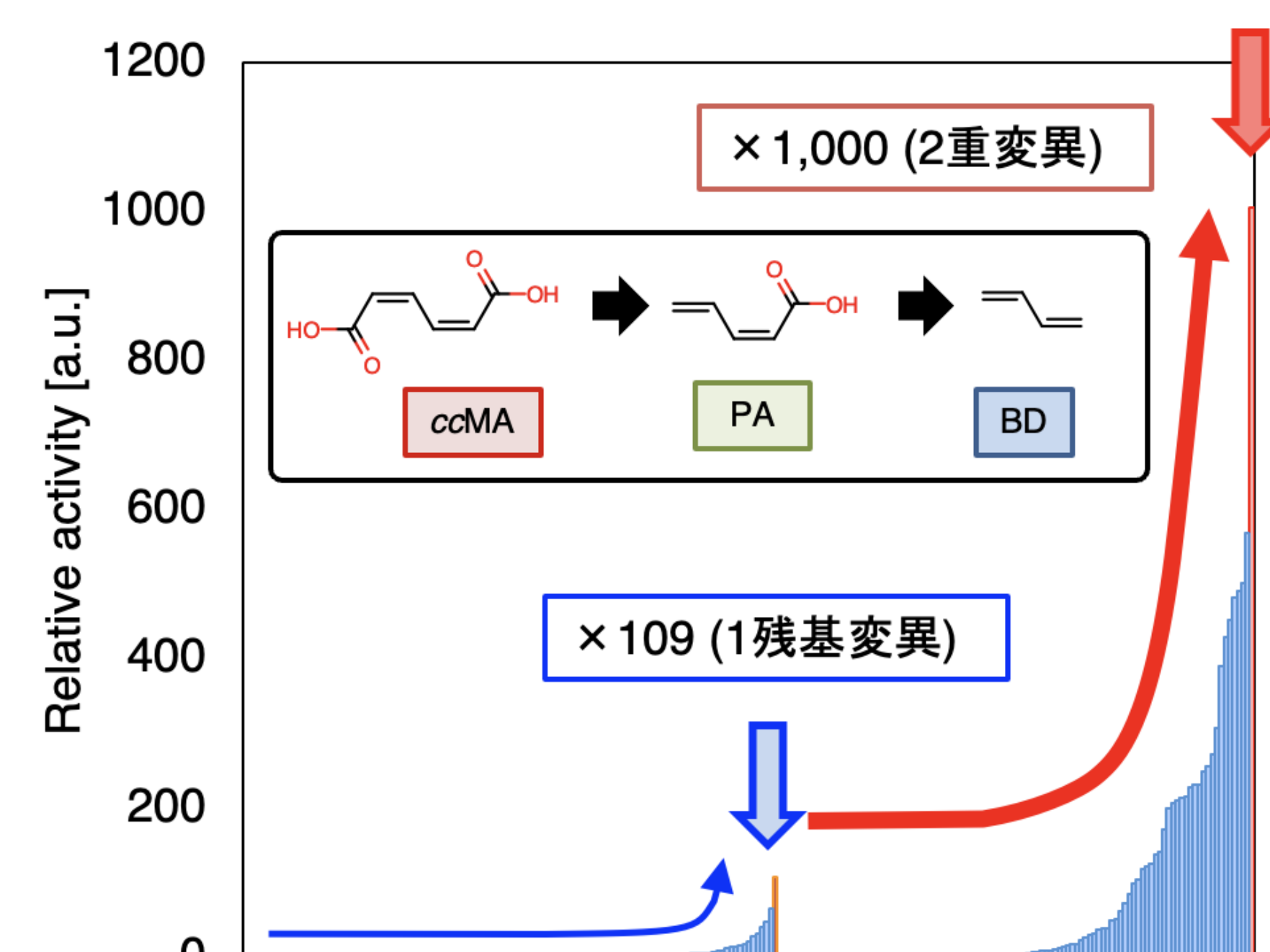
① *in silico*計算に基づく変異体ライブラリーの構築

近年の情報工学の発展により、*in silico*におけるタンパク質モデルの構築や酵素-基質結合モデルのドッキングシミュレーションに基づき、目的生成物および反応前駆体に合わせた合理的な酵素デザインのアプローチに近年強い関心が寄せられている。本研究では**wetとdryの結果を組み合わせ、目的の機能（基質特異性および酵素活性）を持つ酵素変異体を設計するアルゴリズムの開発**に取り組んでいる。今回はその一例として、*Aspergillus niger*由来フェルラ酸脱炭酸酵素（AnFDC）の設計によって、非天然化合物1,3-ブタジエンのバイオ生産に達成した例を紹介する。



② Enzyme promiscuityとEnzyme evolution

本来は芳香族化合物を基質とするAnFDCであるが、基質特異性をジカルボン酸のcis,cis-ムコン酸へと改変できれば1,3-ブタジエンの生成が達成され则认为、算出された各種スコア（基質親和力変化、熱安定性etc...）に基づき変異体構築および評価を行った。その結果、ライブラリーサイズの縮小および有用変異体候補の濃縮により、**単純な変異の掛け合わせ（変異空間160,000個）と比較して圧倒的に少ない変異体数（150個）**で野生型と比較して**1,000倍のブタジエン生成能力を持つAnFDC二重変異体**の獲得に成功した。



今後の方向性・課題等

非天然化合物の生産を目的として人工代謝経路を設計し、コンピューターシミュレーションに基づく合理的設計により、目的の非天然反応を触媒する酵素開発を行った。現在は、今回紹介した合理的改変設計アルゴリズムを他の化合物生産（イソブテン、スチレン、メタクリル酸etc...）に応用できないかの検討や、全く他の反応を触媒する酵素への応用可能性・汎用性を検討するとともに、野生型で有用な非天然反応を触媒する酵素のPromiscuityの予測や酵素変異体の活性予測など、wetとdryの融合による様々な検討を行っているところである。