

人工酵素設計のための分子シミュレーション

Molecular Simulation Study for An Enzyme design

下山紘充

公益財団法人 野口研究所

1. 研究目的

グライコプロテオミクスを行うにあたり、糖ペプチドを切断する人工酵素が必要となる。天然の酵素としては IMPa という強力な酵素があるが、特定の配列の糖ペプチドに関して著しく切断活性が落ちることが報告されていた (*Anal. Chem.*, 2022)。本研究では、前年に引き続き、IMPa が切れないタイプの糖ペプチドを切れる人工酵素の開発を行った。

2. 研究成果の内容

分子力学 (MD) 計算の結果次のことがわかった。糖ペプチドの「切れない原因」となるアミノ酸側鎖が、いくつかの IMPa 表面アミノ酸に長時間束縛され、活性部位へと辿り着くのを邪魔している。

そこで邪魔なアミノ酸に置換を入れたところ、WT に比べて切断活性が上がる変異体が見つかった。現在は MD で見つかった候補に対し変異を入れる実験を行っている途中である。

3. 学際共同利用プログラムが果たした役割と意義

2024 年時点では当該研究室に MD 計算用のサーバーがなかったため、「邪魔なアミノ酸がある」という知見は学際共同利用プログラムで明らかになった結果である。

4. 今後の展望

現在切断率が 1% 以下の「切れない」糖ペプチドに対し、5% 程度切れる人工酵素が見つかっている。今後変異候補を順番に試してゆき、より切れる酵素を探索する。なるべく切断率が高い方がグライコプロテオミクスの検出感度を上げられるためである。しかしながら、全く切れないわけではなくなったため、いずれにせよグライコプロテオミクスに貢献する酵素が実現したと考えている。

論文による成果発表は実験による変異体の検証を待って発表したい。

5. 成果発表

(1) 学術論文

(2) 学会発表

第 63 回日本生物物理学会年会、奈良県 奈良県コンベンションセンター、2025 年 9 月 25 日、グライコプロテオミクスのための O-glycoprotease IMPa 活性部位付近の相互作用解析、下山紘充、玉野智章、山田一作、(ポスター)

第 44 回日本糖質学会年会、青森県 弘前文化センター、2025 年 10 月 3 日、O-グライコプロテアーゼ IMPa の特異性理解のための構造・相互作用解析、下山紘充、玉野智章、山田一作、(ポスター)

Glyco-core Symposium 2025, Nagoya University, Aichi, Japan、2025 年 9 月 25 日、Informatics-Driven Glycoscience Research、Issaku Yamada, Masaaki Matsubara, Naoki Kimura, Hiromitsu Shimoyama, Tomoaki Tamano, Hayato Nakamura, Ayata Ueno, and Shunsuke Ito、(poster)

CBI 学会 2025 年大会、東京都、タワーホール舟堀、2025 年 10 月 28-29 日、Structural and Interaction Analysis for Understanding the Specificity of the O Glycoprotease IMPa、下山紘充、玉野智章、山田一作、(ポスター)

Society for Glycobiology (SfG) Annual Meeting、San Diego, California, USA、2025 年 11 月 10 日、Analysis of the O-glycoprotease IMPa to Understand its Sequence-dependent Cleavage Capacity、Hiromitsu Shimoyama, Tomoaki Tamano, and Issaku Yamada (Poster)

(3) その他

使用計算機	使用計算機に○	配分リソース*		
		当初配分	移行*	一般利用による追加
Pegasus	○	6720		
Miyabi-G	○	18900		
Miyabi-C				
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。 *バジェット移行を行った場合、「+2000」「-1000」のように記入				