

公益財団法人 立松財団 御中
様式 2021A1,A2,B

2025 年 3 月 28 日

所属:名古屋大学理学研究科

氏名:有安真也

**2024 年度 助成****研究経過・終了 報告書**

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	全自動酵素活性評価法と機械学習による化学的酵素機能変換法の開拓
研究の結果	本計画では、長鎖脂肪酸水酸化酵素である P450BM3 を中心にして、申請者らが開発した化学合成可能な小分子(擬似基質)の添加による化学的酵素機能変換法の更なる拡張を目指し、これまで、主に天然に存在する野生型の P450BM3+擬似基質による非天然基質の酸化的官能基化に限定されていたものを、P450BM3 変異体への適用範囲拡大に加え、非天然基質もベンゼンやガス状アルカン以外の多様な基質へと展開を行った。本系においては、酵素反応の土台となる P450 の改変(変異導入)と、数 100 種類の擬似基質の組み合わせの中から、目的の活性、選択性を有する組を見出す必要があるが、本計画ではプロテオーム解析等で用いられている前処理機能を内蔵した多機能オートサンブラを酵素活性評価に転用し、プログラムを書き換えることで、P450、擬似基質、非天然基質を装置にセットするだけで、酵素反応から抽出、ガスクロマトグラフィー解析までを全自動で行う全自動酵素活性評価法の構築に成功した。開発した全自動手法を用い、これまで精力的に検討してきたベンゼン水酸化以外にも、トルエン水酸化、スチレンエポキシ化、ベンゾフェノン水酸化、パレンセン酸化、テストステロン水酸化など、多数の非天然基質の酸化的変換の網羅的な評価を実施した。これまでのベンゼン水酸化では水酸化効率(酵素活性)しか評価値がない系であったが、トルエン水酸化においては、導入される水酸基の位置選択性、スチレンエポキシ化においては、エポキシドの立体選択性と活性値以外の評価値を得ることが出来、変異導入と擬似基質のそれぞれが選択性に与える影響を網羅的に調査することが出来た。さらに、ペプチド固相合成法を用いたジペプチド型擬似基質のライブラリー構築の他、容易にライブラリー拡張が見込めるカルボン酸無水物を原料とした新規ジカルボン酸型擬似基質の開拓などにも成功した。また、本計画で得られた知見を基に天然物を擬似基質として利用可能な P450 変異体の開発にも成功した。さらに全自動活性評価で得られた膨大な活性値、選択性のデータを学習データとし、擬似基質の分子物性を説明変数とした機械学習を試み、ベンゼン、トルエン水酸化の活性値に関しては、比較的良好な相関係数を示す予測モデルの構築に成功した。
研究発表 (実績)	【学術論文】 Yuya Yokoyama, Shinya Ariyasu (corresponding author), Masayuki Karasawa, Chie Kasai, Yuichiro Aiba, Hiroshi Sugimoto, Osami Shoji, "Bacterial Acyl Homoserine Lactones Triggered Non-Native Substrate Hydroxylation Catalyzed by Directed-Evolution-Derived Cytochrome P450BM3 Mutants", <i>ChemCatChem</i>, 2025, 17, e202401641 【学会報告】 有安真也、山本健太、笠井千枝、愛場雄一郎、莊司長三「擬似基質を用いたシクロム P450BM3 による生理活性分子の化学変換」、第 33 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム、2024 年 6 月 7-8 日、岡山大学(ポスター発表) 有安真也、合成分子の誤認識によるタンパク質の機能改変と触媒、医薬応用、東京理科大学薬学部生物有機化学シンポジウム 2024、令和 6 年 10/5、東京理科大学神楽坂キャンパス(招待講演) 有安真也、酵素機能変換分子を用いたシクロム P450 による非天然基質の酸化的官能基化、日本薬学会第 145 年会、令和 7 年 3/26-29、福岡国際会議場、マリンメッセ福岡 B 館、福岡サンパレス(シンポジウム依頼講演)

提出期限：研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。