

## 7種類のアミノ酸のみを用いた古代タンパク質フォールドの再構成 Reconstruction of an ancient protein fold with seven amino acid types

八木創太<sup>1</sup>, 田上俊輔<sup>1,\*</sup><sup>1</sup> 理化学研究所生命機能科学研究センター

〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町 1-7-22

Sota YAGI and Shunsuke TAGAMI<sup>1,\*</sup><sup>1</sup>RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research,

1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan

### 1 はじめに

現在のRNAポリメラーゼは3000アミノ酸以上の巨大なタンパク質複合体だが、その中心部位は約90アミノ酸の小さなβバレル型構造(Double Psi Beta Barrel, DPBB)で形成されている(図1A)。このDPBBフォールドはRNAポリメラーゼ以外の様々なタンパク質構造中にも保存されており、太古のタンパク質フォールドの1つだと考えられている。さらに、DPBBフォールドは内部に疑似二回対称性を持っており(図1B)、もともとは45アミノ酸程度の短いペプチドが二量体化することで誕生したと考えられている。すなわち、太古の単純なペプチドから立体構造を持つタンパク質への進化の形跡がRNAポリメラーゼの構造中に保存されている。そこで、我々はこのDPBBフォールド誕生の過程を実験的に再現するために、DPBBフォールドをペプチドの集合体として再構成する実験を行った[1]。

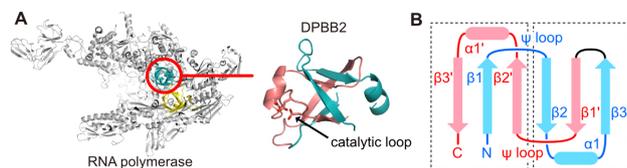


図1: RNAポリメラーゼの中心構造

### 2 実験

現存するDPBBを含むタンパク質の中でも、高い疑似二回対称性をもつVCPタンパク質のDPBBドメインをエンジニアリングすることによって、完全対称性のDPBBを再構築した。さらにこの完全対称DPBBを半分にした短いペプチドを用いて、ペプチドのホモ二量体化によるDPBBフォールドの再構成にも成功した。さらに使用されているアミノ酸を置換していくことで、7種類のアミノ酸のみを用いてDPBBフォールドを再構成することにも成功した。

### 3 結果および考察

本研究では、短いペプチド(43アミノ酸)の絡み合うようなホモ二量体化によってDPBBフォールドを再構成することに成功した。さらに、このペプチドのアミノ酸レパートリーを単純化することにより、

7種類のアミノ酸(Ala, Asp, Glu, Gly, Lys, Arg, Val)のみでDPBBフォールドを作成することにも成功した(図2)。これらのアミノ酸はコドン表のGNNとARRのみでコード化できる(R=AまたはG)。したがって、DPBBフォールドは、初期の翻訳システムと遺伝暗号によって作成可能であったと推測された。さらに面白いことに、このペプチドのフォールディング過程では、ペプチド合成の副産物が混ざった環境からでも正しい配列のみが折りたたまれることが分かった。すなわち、タンパク質のフォールディング過程が自己精製過程としても働いていたかもしれない。また、7種類のアミノ酸で再構成されたDPBBの疎水性コアはアラニンとバリンだけで形成されており、多くの隙間を含んでいた。このことは、原始タンパク質は疎水性コアのアミノ酸を最適化しなくてもフォールド可能であることを示している。

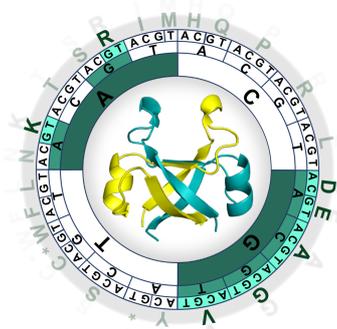


図2: 7つのアミノ酸のみで作られたDPBB

### 4 まとめ

以上の観察結果は、立体構造を持つタンパク質がこれまで考えられていたよりもはるかに簡単に出現しうることを示しており、タンパク質誕生の謎の解決のための大きな進歩であると言える。

### 謝辞

実験をサポートしてくださったKEKおよびPFのスタッフに感謝いたします。

### 参考文献

[1] S. Yagi *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **143**, 15998–16006 (2021)

\* shunsuke.tagami@riken.jp