

BL-1A, BL-5A, BL-10C, BL-17A, AR-NE3A, AR-NW12A/ 2024G527

新規フォールドおよび機能領域を持つ de novo タンパク質の結晶構造解析 Crystallographic analysis of de novo proteins with novel folds and functional domains

三好伯門, 鹿島騰真, 宮永顕正, 伏信進矢*

東京大学大学院農学生命科学研究科、〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Hakuto MIYOSHI, Toma KASHIMA, Akimasa MIYANAGA, and Shinya FUSHINOBU*

Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

1 はじめに

画像生成分野で生成モデルは大きな進歩を見せているが、アミノ酸残基間の距離行列に画像生成モデルを適用することで、天然にない新規な(de novo)タンパク質を設計することも可能になっている。我々の共同研究者は、生成モデルとして GAN もしくは diffusion に AlphaFold2 の一部を組み込んだモデルを使用して、タンパク質の距離行列を生成した後で、Protein MPNN などのソフトウェアを利用して、PDB に存在するタンパク質に似ていないフォールドを持つ de novo タンパク質を多数設計する手法を開発している。一方で、植物の自家不和合性に関わるタンパク質として、レセプターSRK と特異的に相互作用する SP11 タンパク質[1]の短い機能領域を含む de novo タンパク質の設計も行っている。本課題ではこれらの X 線結晶構造解析を進めて、タンパク質設計分野における実験的な構造基盤を得ることを目的とした。

2 実験

それぞれのタンパク質の大腸菌での発現・精製系を確立した。その後、各サンプルで結晶化を行い、KEK-PF の構造生物学ビームラインで X 線回折データを測定した。

3 結果および考察

SP11 の機能領域を含む de novo タンパク質で結晶化に成功した。PF-AR NE3A ビームラインで測定した空間群 $P6_522$ のデータセットからは、分解能 $1.5 \text{ \AA}$ の結晶構造を決定することができた(図1)。この構造では、SP11 の機能領域として仕込んだ数アミノ酸の部分が、alternative conformation をとっていた。さらに、非対称単位に4分子を含む空間群 $P2_12_12_1$ の結晶構造も決定したところ、この機能領域において、1:3 の割合で2種類のコンフォメーションが観測された。De novo 設計タンパク質中に自然由来タンパク質の配列を組み込んだデザイン手法はこれまで行われておらず、機能領域が実際は複数のコンフォメーションを取ることを初めて明らかにした。

新規フォールドを持つ de novo タンパク質については、GAN モデルで生成したタンパク質で1種類、

diffusion モデルで生成したタンパク質で1種類、それぞれ結晶構造を決定することに成功した。これらのタンパク質は設計時とほぼ同じ立体構造を持つことが示された。

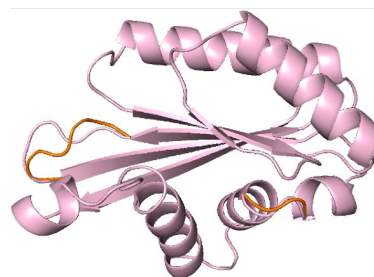


図1：SP11の機能領域を組み込んだ新規設計タンパク質の結晶構造。オレンジ色が天然の構造と異なる alternative conformation をとる部分。

謝辞

本研究は、森脇由隆博士、佐久間航也博士、寺田透教授、山口泰平氏、岡田涼氏との共同研究です。研究および実験をサポートして下さった山田千早博士、KEK および PF の皆様に感謝いたします。

参考文献

[1] K. Murase *et al.*, *Nat. Commun.***11**, 4916 (2020).

成果

- 三好伯門、佐久間航也、森脇由隆、鹿島騰真、宮永顕正、寺田透、伏信進矢 日本蛋白質科学会 2024 年度大会、札幌、2024 年 6 月 11 日
- 三好伯門、佐久間航也、森脇由隆、鹿島騰真、宮永顕正、寺田透、伏信進矢 日本農芸化学会 関東支部 2024 年度大会、東京、2024 年 8 月 30 日

* asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp