

原子・分子の自在配列と特性・機能
2021 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

真壁 幸樹

山形大学 大学院理工学研究科
准教授

分岐を持った蛋白質ユニット自在配列の実現

研究成果の概要

本年度は昨年度に作製した、蛋白質分岐複合体を作り出すための各パーツについての連結反応を進めた。また、分岐ユニットとして用いている SpyCatcher/SpyTag の条件依存的な連結を目指した保護されたアミノ酸を持つ SpyTag を合成した。

まず、蛋白質分岐複合体として小型抗体 Nanobody を機能ユニットの連結を行った。精製した各パーツ蛋白質を常温にて混合したところ、連結反応が進行し、高次の連結体の形成が確認された。多段階で反応を進め、最終生成物が形成していることを確認した。ただ、目的外の副産物の生成も観察されたため、現在、精製方法について検討を進めている。

次に、SpyTag の改変では、Fmoc 固相合成法により保護基をもつアミノ酸を含んだ Spytag を合成した。溶液条件を保護基が脱保護される条件に変えると、目的の SpyTag が生成することが確認できた。しかし、通常の溶液条件においても SpyCatcher が存在すると脱保護が起こってしまうことが明らかとなったため、より結合が強力な保護基に変更して現在実験を進めている。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Cloning and structural basis of fluorescent protein color variants from identical species of sea anemone, *Diadumene lineata*”, Yuki Horiuchi, Koki Makabe, Danai Laskaratou, Kuniyuki Hatori, Michel Sliwa, Hideaki Mizuno and Jun-ichi Hotta, *Photochemical & Photobiological Sciences* (2023)
DOI: 10.1007/s43630-023-00399-0
- 2) “Mutational analysis of the effects of N-glycosylation sites on the activity and thermal stability of rutinoidase from *Aspergillus oryzae*”, Takuya Koseki, Naoki Ishida, Ruka Hirota, Yoshihito Shiono, and Koki Makabe, *Enzyme and Microbial Technology*, 161, 2022
DOI: 10.1016/j.enzmictec.2022.110112
- 3) “GH-16 type β -1,3-glucanase from *Lysobacter* sp. MK9-1 enhances antifungal activity of GH-19 type chitinase, and its glucan-binding domain binds to fungal cell-wall”, Yuitsu Otsuka, Koki Sato, Shigekazu Yano, Haruki Kanno, Wasana Suyotha, Hiroyuki Konno, Koki Makabe, and Toki Taira, *Journal of Applied Glycoscience*, Article ID jag.JAG-2022_0002, Advance online publication April 14
DOI: 10.5458/jag.jag.JAG-2022_0002