

細胞の動的・高次構造体  
2021年度採択研究代表者

2022年度  
年次報告書

坪山 幸太郎

ノースウエスタン大学 ファインバーグ医学校  
ポストドクトラルスカラー

人工タンパク質による、高次構造体の自由自在な解体・分解

## 研究成果の概要

本年度は、基礎的な人工タンパク質設計法の開発に取り組んだ。タンパク質は生体にとって必須であるのみならず、医学・工学分野でも有用な物質である。そこで、先行研究 (Rocklin et al *Science* 2016)にて、成功率 2%という高難易度のトポロジーを持つ人工タンパク質について集中的に設計を行い、その構造安定性を Yeast display 法を利用して測定した。さらにその測定データとアミノ酸配列、構造的な特徴の関係性を解析することにより、構造安定性にとって重要な構造的特徴を特定した (Kim\*, Tsuboyama\* et al *PNAS* 2022)。

また、タンパク質の構造安定性はほぼあらゆるタンパク質の性質に影響を与えるため、「アミノ酸配列は、タンパク質の構造と構造安定性をどのように規定しているのか」という一般則を理解することは重要である。その一般則の理解を目的に、cDNA display 法 (Yamaguchi et al *NAR* 2008)を利用することで、タンパク質の構造安定性を更に大規模かつ正確に測定可能なスクリーニング法についても開発を行っている。本手法で得られた超大量のデータを利用することで、更に効率よく人工タンパク質を設計可能なパイプライン構築を目指している。

さらに、上記のパイプラインを利用し、細胞質へと到達可能な機能性人工タンパク質の設計にも取り組んでいる。細胞質へと到達可能な 20 アミノ酸程度のペプチドが知られているが、これらは安定な構造を持たず凝集しやすいなどの問題があるため、細胞質内へと速やかに到達可能で、かつ安定な構造を持つ人工タンパク質を効率よく設計するパイプラインの構築を目的とした。実際に、1万種類程度の人工タンパク質を設計し、スクリーニングを行い、細胞質への移行性にとって重要な特徴量を同定しつつある。この特徴量をもとに、次のライブラリを構築し、スクリーニングを次年度以降に再度行っていきたいと考えている。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) “Dissecting the stability determinants of a challenging de novo protein fold using massively parallel design and experimentation”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 119, No. 41, e2122676119, 2022