

古賀 信 康 (准教授) (2014年4月1日～2022年9月30日)*)

小杉 貴洋 (助教)
古賀 理恵 (特任研究員)
南 慎太郎 (特別協力研究員)
鈴木 規子 (技術支援員)
鈴木 博子 (事務支援員)

A-1) 専門領域：生物物理学, タンパク質分子デザイン

A-2) 研究課題：

a) 計算機および生化学的アプローチによるタンパク質分子デザイン

A-3) 研究活動の概略と主な成果

望みの機能を持ったタンパク質分子を自在にデザインすることが可能になれば、細胞の制御・設計や医療への貢献、加えて新規酵素やマテリアル開発による産業への応用が期待される。我々は、タンパク質分子を主鎖構造から完全にゼロからデザインすること、更には自然界のタンパク質分子を改造することで、望みのタンパク質分子を創製する理論と技術の開発を行う。

- a) 回転対称多量体タンパク質のデザイン；多くのタンパク質は3次構造を形成した後に4次構造を形成することで機能を発現する。これまでにデザインしたタンパク質をビルディングブロックとして組み合わせることで、多様な形状の新規回転対称多量体をデザインする技術を開発する。これまでに開発した技術を用いて、2量体および5量体の設計に成功し、6量体についてもデザインしたタンパク質のひとつが、6量体を形成していることを示唆する結果を得ている。
- b) ヘム結合タンパク質のデザイン；これまでにデザインしたタンパク質をビルディングブロックとして組み合わせることで、望みの小分子に結合するタンパク質分子をデザインする手法の開発を行う。特に、ヘム結合タンパク質を例として研究を行っている。これまでにデザインしたタンパク質を、2量体のコイルドコイルを形成する α ヘリックスのNC末端それぞれに連結させることで、連結したドメイン間に小分子結合サイトが形成されるか計算機シミュレーションを行い調べている。
- c) ATP結合タンパク質のゼロからのデザイン；自然界にはATPを加水分解して動的機能を発現するタンパク質が存在する。タンパク質がATPを加水分解するためのミニマムな装置を明らかにすることを目的とし、まずATPを結合するタンパク質のゼロからのデザインを行った。これまでに発見した3つのルールとヌクレオチド結合に重要とされるP-loopモチーフを用いることで、計算機上でATP結合タンパク質のデザインを行った。生化学実験により、デザインしたタンパク質は安定な構造を形成し、ATPに対して800 μ Mくらいの結合親和性を示した。さらに、結晶化して構造を解くことにより、設計通りの構造をしていることを確認した。今後は、より活性を向上させることを目指す。
- d) 動的機能を発現する自然界のタンパク質 F-ATPase および V-ATPase の改造；自然界には、ATP加水分解のエネルギーを利用して構造変化することで機能を発現するタンパク質が存在する。このようなタンパク質がどのようにして動的機能を発現しているのか、回転モータータンパク質である F-ATPase および V-ATPase を改造することで、そのメカニズムに迫った。分子動力学シミュレーション、1分子観測、ATPase 活性測定、cryo 電子顕微鏡構造解析、結晶構造

解析等あらゆる手法を駆使して、構造変化のメカニズムに迫ったところ、F-ATPaseの構造変化に重要な部位を特定した。また、V-ATPaseの非触媒活性部位に、ヌクレオチド結合サイトを設計することで、V-ATPaseに新規アロステリック機構を付与し、V-ATPaseの回転を加速することに成功した。さらに、ここで設計したV-ATPaseと天然のV-ATPaseを比較することで、天然のV-ATPaseの複合体状態に関する知見も得られている。

- e) タンパク質の耐熱性を向上させることは、タンパク質を産業利用する上で重要である。タンパク質をゼロからデザインする技術を応用して、自然界のタンパク質を合理的に安定化する手法の開発を行った。開発した手法を用いて、PET製品のバイオリサイクルに重要なPET分解酵素の安定化に成功した。
- f) α ヘリカル構造を自在にデザインするための手法の開発を行った。まず自然界のタンパク質構造を解析し、ヘリックス同士をつなぐ典型的なループパターン18種を明らかにしている。これらのループパターンを組み合わせることで、計算機上で疎水性コアパッキングを形成し、加えて表面形状が多様な α ヘリカル構造を構築する手法を開発した。さらに、これら α ヘリカル構造に対して、側鎖-側鎖もしくは主鎖-側鎖水素結合が形成されるよう側鎖設計の手法を開発した。

B-1) 学術論文

M. MIYAZAKI and T. KOSUGI, “Uncovering the Design Principles of Supramolecular Assemblies through Manipulation of the Structures, Dynamics, and Functions,” *Biophys. Physicobiol.* **19**, e190031 (2022). DOI: 10.2142/biophysico.bppb-v19.0031

A. OTOMO and T. KOSUGI, “Tackle “Molecular Engine” by Early-Career Researchers,” *Biophys. Physicobiol.* **19**, e190039 (2022). DOI: 10.2142/biophysico.bppb-v19.0039

B-3) 総説, 著書

古賀理恵, 小杉貴洋, 古賀信康, 「タンパク質の新常識 4. de novo デザインタンパク質——生物がもたないタンパク質を設計できる時代」, *実験医学増刊*, **40(12)**, 2046–2054 (2022).

小杉貴洋, 「タンパク質設計技術で目指す未来——特集 現代化学の最前線 2023」, *現代化学*, 2023年1月号 (**662**), 34–36 (2022).

B-4) 招待講演

古賀信康, 「Design principles for proteins and exploration of novel ones」, IPR × RIKEN(BDR) Symposium 2023 「Dive into Data of Life」, 豊中, 2023年2月.

古賀信康, 「新規タンパク質配列空間の探索」, 第25回高速分子動画オンラインセミナー, オンライン開催, 2022年10月.

古賀信康, 「新規タンパク質構造の設計」, WINGS-LST/SPRING-GX コロキウム 2022, 大磯プリンスホテル, 大磯町, 2022年10月.

古賀信康, 「新規タンパク質構造の創出 (2SCP 生体分子の人工設計: タンパク質, RNA, DNA)」, 第60回日本生物物理学会年会, 函館, 2022年9月.

古賀信康, 「タンパク質の合理設計手法の開発: 酵素の耐熱化とゼロからの設計」, キリンホールディングス株式会社 R&D 本部キリン中央研究所, 湘南 iPARK, 藤沢, 2022年8月.

古賀信康,「タンパク質の合理設計：自然界のタンパク質の改造, 新規創成 (WS2発動分子エンジニアリング：タンパク質分子機械をいじり倒して実現する新機能)」, 第22回日本蛋白質科学会年会, つくば国際会議場, つくば, 2022年6月.

小杉貴洋,「機能を持った“新しい”蛋白質の設計」, 第22回日本蛋白質科学会年会ワークショップ「AlphaFoldの時代の分子シミュレーション」, つくば, 2022年6月.

小杉貴洋,「蛋白質(計算)科学から始まる生物学を目指して」, 第22回日本蛋白質科学会年会シンポジウム「未来の話をしよう!」, つくば, 2022年6月.

小杉貴洋,「人生の選択：その時私が考えたこと」, 蛋白質科学会若手の会第二回研究交流会, つくば, 2022年6月.

小杉貴洋,「アロステリック部位を設計して回転分子モーターを制御する」, 第6回学術変革(B) SPEED journal club, オンライン開催, 2022年5月.

小杉貴洋,「高次構造体の協奏的機能を合理的に制御することを目指して」, 第60回日本生物物理学会年会JST さきがけ「細胞の動的な高次構造体」共催シンポジウム「高次構造体を自在に操る」, 函館, 2022年9月.

小杉貴洋,「タンパク質設計技術を用いて生体内化学反応を理解・制御する」, 化学反応のポテンシャル曲面とダイナミックス, 京都, 2022年12月.

N. KOGA, “De novo design of protein structures,” iNANO-IMS-ExCELLS Interdisciplinary Nanoscience Joint Meeting, Okazaki (Japan), December 2022.

N. KOGA, “De novo design of novel protein structures,” Advances In Protein Folding, Evolution, and Design 2022, Bayreuth (Germany), April 2022.

T. KOSUGI, “Allosteric control of rotary molecular motor by redesigning non-catalytic interface,” Sendai2022 Workshop, Sendai (Japan), August 2022.

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本生物物理学会分野別専門委員：タンパク質設計・ドラッグデザイン (2015–2023).

学会の組織委員等

第60回日本生物物理学会年会シンポジウム「生体分子の人工設計：タンパク質, RNA, DNA」オーガナイザー (2022).

第60回日本生物物理学会年会シンポジウム「高次構造体を自在に操る」オーガナイザー (2022). (小杉貴洋)

第60回日本生物物理学会年会シンポジウム「発動分子科学への若手研究者による挑戦」オーガナイザー (2022). (小杉貴洋)

学会誌編集委員

生物物理学会誌編集委員 (2022–).

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(B),「多様な形状の新規回転対称多量体タンパク質の合理デザイン」, 古賀信康 (2022年度–2024年度).

科学技術振興機構さきがけ研究,「タンパク質複合体を合理的に改造し, 細胞内機能を理解・制御する」, 小杉貴洋 (2020年度–2023年度).

自然科学研究機構ExCELLS 若手奨励研究,「人工設計タンパク質を多量体化することでヘム結合部位を創る」, 小杉貴洋 (2021年-2022年).

自然科学研究機構若手研究者による分野間連携研究プロジェクト,「タンパク質機能制御技術を用いた細胞生物学の創出」, 小杉貴洋 (2021年-2022年).

科研費新学術領域研究,「生体発動分子の創成:自然界の生体分子の改造とゼロからの設計」研究計画班(代表:古田健也), 古賀信康, 小杉貴洋(研究分担者) (2018年度-2022年度).

B-11) 産学連携

共同研究, キリンホールディングス(株),「PET分解酵素の開発」, 古賀信康 (2022年).

C) 研究活動の課題と展望

2022年10月に大阪大学蛋白質研究所に着任した。これまでの研究活動により様々な形状のタンパク質構造を設計する技術の開発に成功した。蛋白研では、これらの技術を用いて機能タンパク質を設計するとともに、設計したタンパク質構造をビルディングブロックとして組み合わせ、より巨大かつ複雑な形状のタンパク質を設計する技術開発に取り組む。

*) 2022年10月1日大阪大学蛋白質研究所教授