

## 研究成果報告書

研究テーマ (和文)	蛋白質高次構造形成の制御を目指した人工ドメインスワッピング設計学		
研究テーマ (英文)	Domain-swapping protein design for the higher-order structure formation		
研究期間	2018年 ~ 2021年	研究機関名	山形大学
研究代表者	氏名	(漢字)	真壁 幸樹
		(カタカナ)	マカベ コウキ
		(英文)	Koki Makabe
	所属機関・職名	山形大学大学院理工学研究科バイオ化学工学専攻・准教授	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	山中 優
		(カタカナ)	ヤマナカ マサル
		(英文)	Masaru Yamanaka
	所属機関・職名	奈良先端科学技術大学院大学・助教 (現 産官学連携推進部門 URA)	

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

生体高分子である蛋白質の中には、分子同士がさらに会合して大きな構造体を形成し機能するものが多く存在する(蛋白質の四次構造)。このような大きな構造体を形成するメカニズムの一つにドメインスワッピングがある。これはドメイン構造中の一部を他分子と交換し自発的に高次化する機構であり多数の生体蛋白質から見いだされている。ドメインスワッピングを用いて、蛋白質の高次構造設計を目指す研究はこれまで数多く行われてきたが、大きな構造ユニットの挿入が必要など汎用的な方法はなかった。そこで、本研究では、ドメインスワッピングを人工的に設計し、汎用的な蛋白質の高次構造形成をめざした。

まず、標的蛋白質のドメイン中のループを大きく欠失させて、剛直なプロリン残基を導入するという全く新しい方法でドメインスワッピング二量体の作製し、結晶構造の決定に成功した(ChemBioChem 2019)。引き続き、ドメインスワッピングで変異導入したドメインの蛋白質構造への影響を調べるために、ドメイン欠失変異体を作製し、その分子構造を結晶構造解析と分子動力学計算から解明した。それにより、本研究で用いたモデル蛋白質のβシート構造の安定性を見出した(Proteins 2021)。さらに、蛋白質の分子設計を行うための新しいモデル蛋白質としてTOP7を選び用いた。しかし、結晶構造の決定が困難であったため、さらなる分子改変を行い、容易に高分解能で結晶構造を決定できる変異体の設計に成功した(International Journal of Molecular Sciences 2022)。これまでに、TOP7ヘポリプロリンの導入で二量体化に成功している。

ドメインスワッピングを金属イオンの添加で誘導できる、スイッチング分子の設計を進め、作成に成功した。現在、この分子の分子構造決定を目指している。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Domain-Swapping Design by Polyproline Rod Insertion				
	著者名	Shota Shiga, Masaru Yamanaka, Wataru Fujiwara, Shun Hirota, Shuichiro Goda, Koki Makabe	雑誌名	Chembiochem		
	ページ	2454~2457	発行年	2 0 1 9	巻号	20 (19)
雑誌	論文課題	Structural analysis of the $\beta$ -sheet edge of peptide self-assembly using a model protein				
	著者名	Shota Shiga, Koki Makabe	雑誌名	Proteins		
	ページ	845~852	発行年	2 0 2 1	巻号	89 (7)
雑誌	論文課題	Surface Engineering of Top7 to Facilitate Structure Determination				
	著者名	Yuki Ito, Takuya Araki, Shota Shiga, Hiroyuki Konno, Koki Makabe	雑誌名	<i>International Journal of Molecular Sciences</i>		
	ページ	701	発行年	2 0 2 2	巻号	23 (2)

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

The domain-swapping is a mechanism, in which a part of the structural element interconverts with another molecule. As such, higher order of protein complexes is formed. Although there are many studies to achieve the artificial domain swapping, there has been no general method for domain swapping. In this study, we are aiming for the successful design of domain swapping with minimal insertion of the structural element.

Thus far, we have successfully designed protein molecules with the domain-swapped structure, by inserting a rod structure with a poly-proline sequence. Crystal structures of the domain-swapped dimers revealed that the molecules formed the inter molecular domain-swapping. We are currently working of the design of switching molecule which converts monomer to dimer by adding metal ions.

共同研究者	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				