

2023年2月10日

自然に観測されないトポロジーを持つ タンパク質の人工設計

Design of proteins with topologies unobserved in nature

古賀信康

大阪大学・蛋白質研究所 (IPR)

Who am I ?

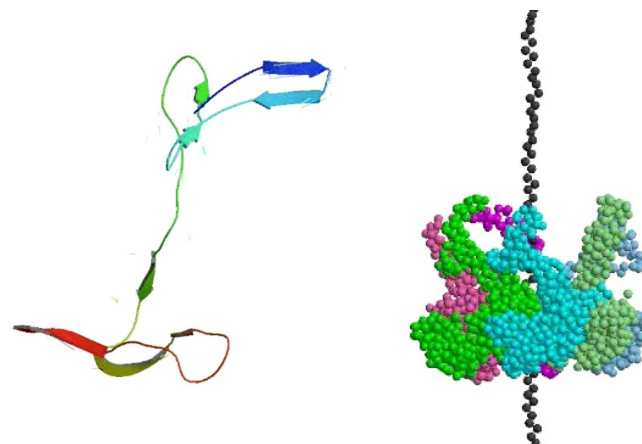
■ 1977

■ 1997 神戸大学・理学部化学科

■ 2001 - 2006 神戸大学・自然科学研究科

分子シミュレーションの開発：
タンパク質折りたたみ + 分子モーターの研究

@ 高田研究室（現・京都大学）

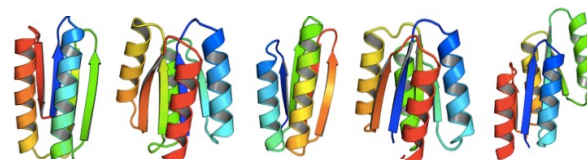


■ 2007 - 2014 ワシントン大学・生化学科
(2007-2009 海外学振)

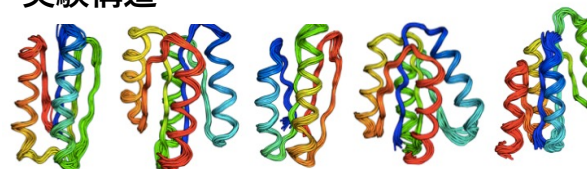
タンパク質デザイン

@ Baker研究室

計算機モデル



実験構造



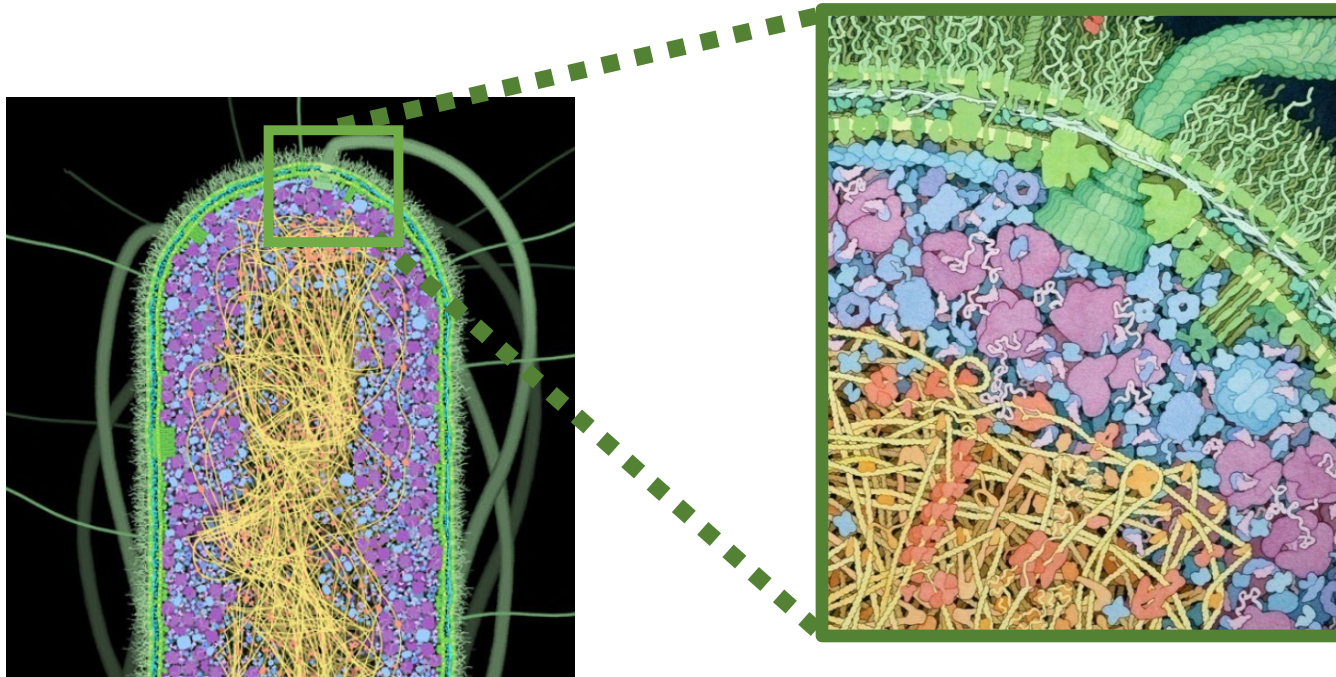
■ 2014 自然科学研究機構・分子科学研究所 准教授

■ 2018 自然科学研究機構・生命創成探究センター 准教授

■ 2022.10 大阪大学・蛋白質研究所 (IPR)

附属蛋白質先端データ科学研究センター (ASPiRE)・蛋白質統合機能デザイン研究室 教授

タンパク質分子：生命現象を生み出す主役

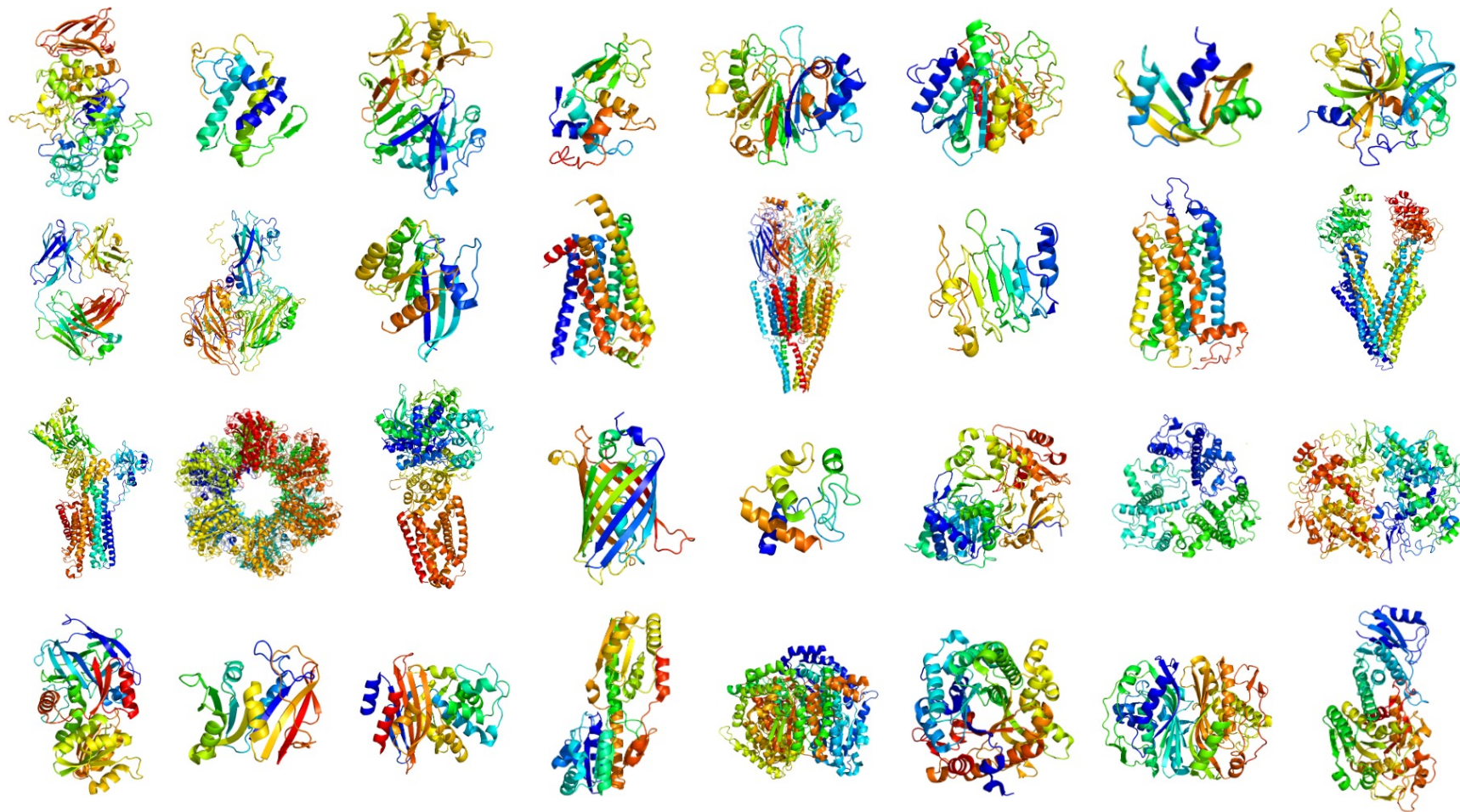


Figs by David Goodsell

<https://www.scripps.edu/goodsell/index.html>

生命現象は、様々なタンパク質分子が
分子構造に基づいた相互作用の結果生じる

多くのタンパク質構造が決定されている



200708

件を2023-01-25に公開中



PDBj
Protein Data Bank Japan



Worldwide
Protein Data Bank
Foundation

WORLDWIDE
PDB
PROTEIN DATA BANK

[English](#) [日本語](#) [简体中文](#) [繁體中文](#) [한국어](#)

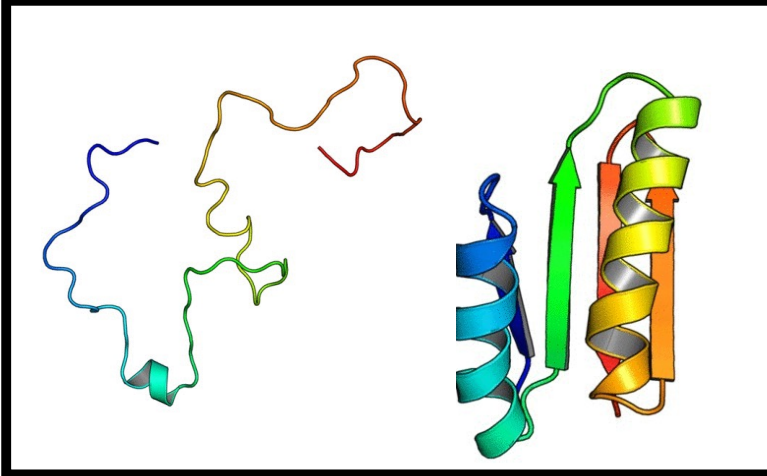
Search pdbj.org



[RCSB PDB](#) [PDBe](#) [BMRB](#) [Adv. Search](#) [Search help](#)

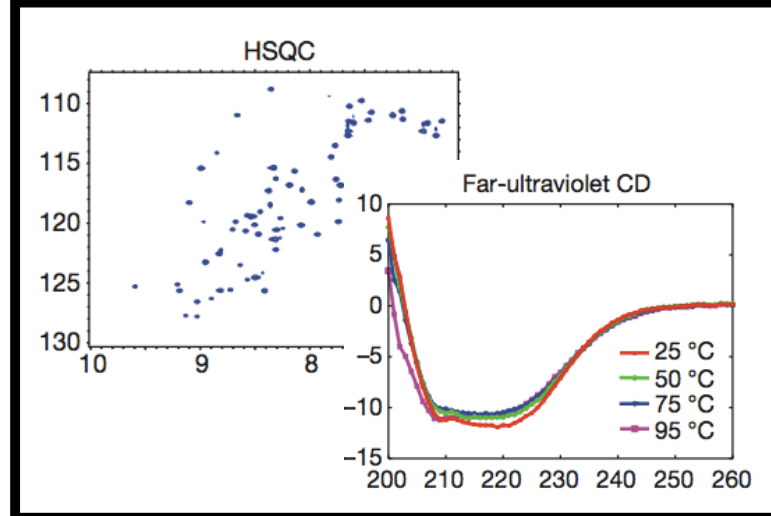
目標

天然のタンパク質構造データ
+ 計算機シミュレーション



+

生化学実験



自然に存在しないタンパク質分子をデザインする

- ・ タンパク質を支配する法則を明らかにする
- ・ 生命現象の解明 医療や産業に貢献する

広大なタンパク質配列空間: 20^N

100残基タンパク質の全アミノ酸配列空間：

$$20^{100} = \sim 10^{130} \text{ 配列パターン}$$

自然がこれまでに探索したアミノ酸配列パターン？

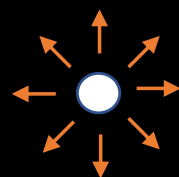
地球上 1,000万種の生物が、それぞれ 100,000 遺伝子持つとする：

$$10^{11} \text{ 配列パターン}$$

自然はほんの僅かな配列空間を探索したのみ

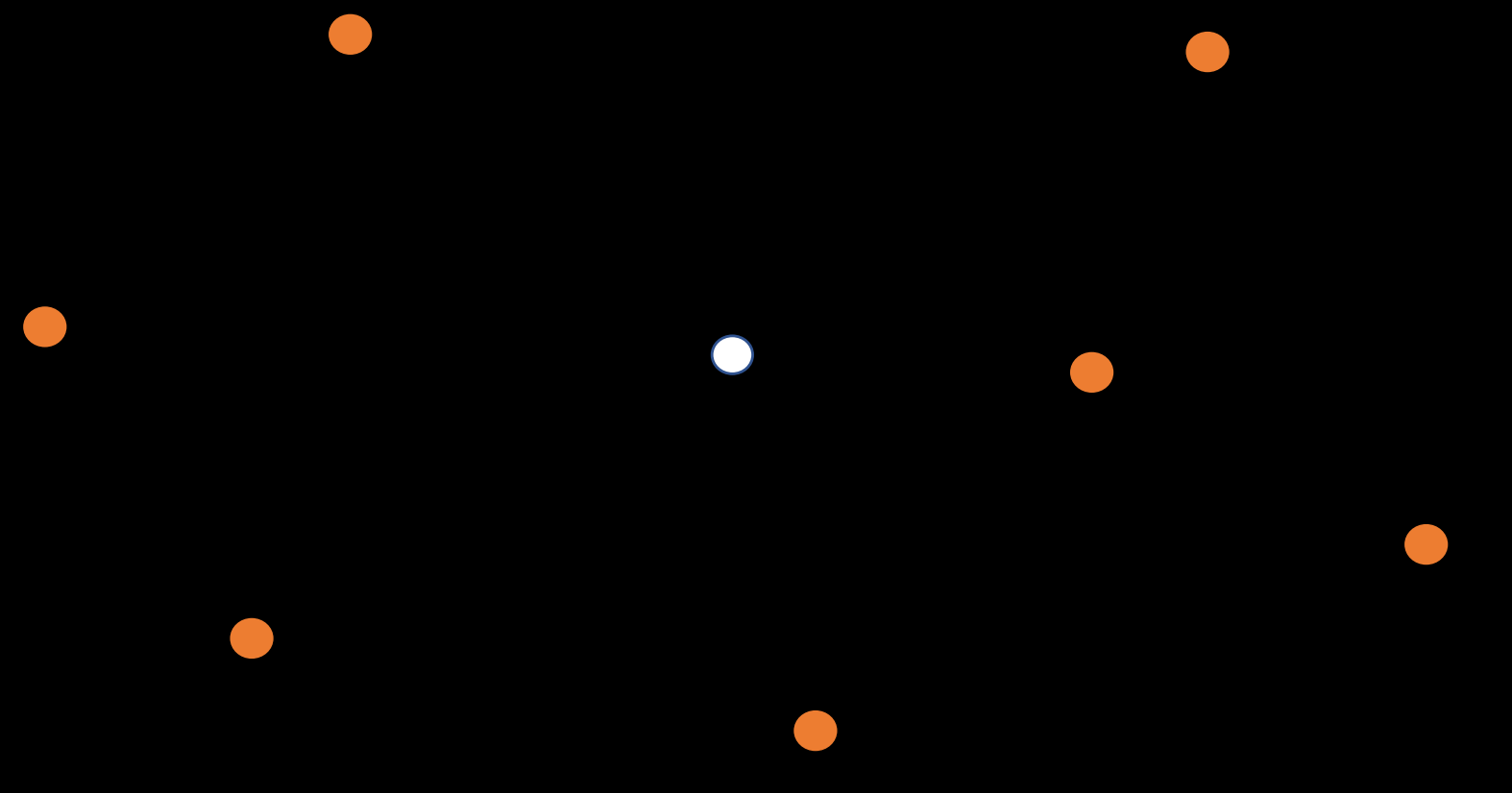


これまでのタンパク質工学



自然が発見した配列空間を広げる
by 進化実験や分子構造に基づく合理設計

私達のゴール



全く新規のタンパク質をゼロからデザインし
新規配列空間を探索する

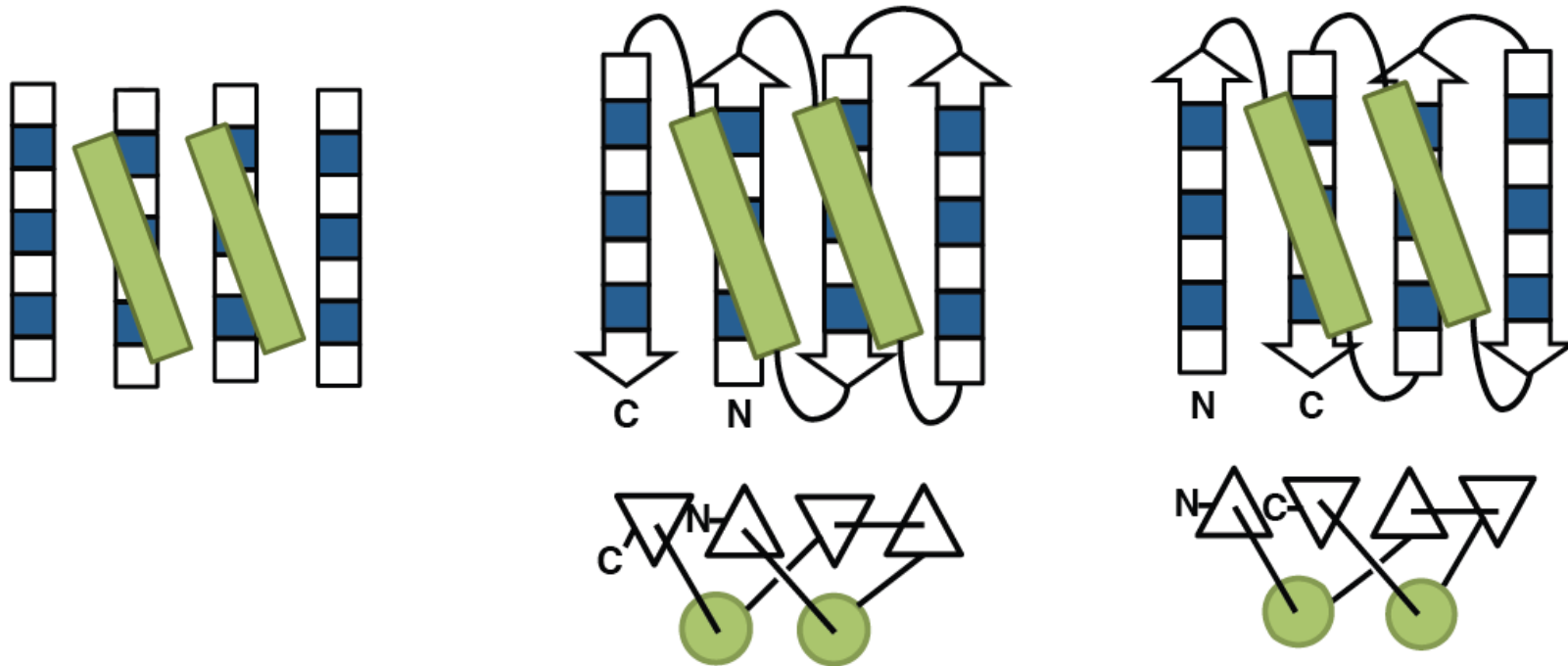
Exploration of novel $\alpha\beta$ -protein folds through de novo design

S. Minami et al., biorxiv, 2021

トポロジー（フォールド）？

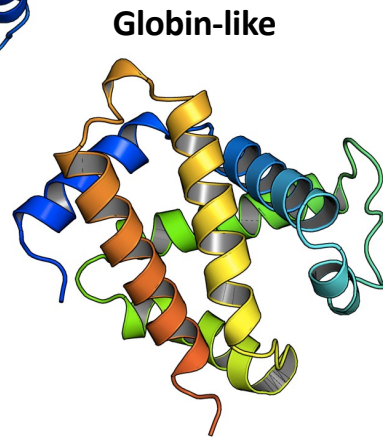
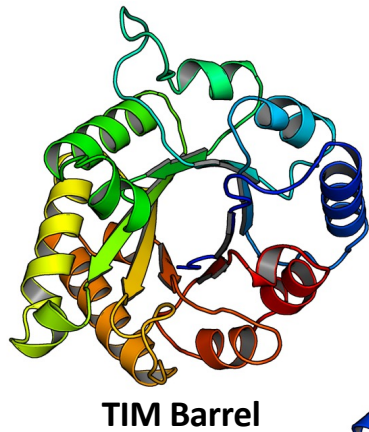
3次元空間での2次構造（ α -helixや β -strand）の並び + ループのつながり

（※他分野におけるトポロジーとは定義が異なることに注意）

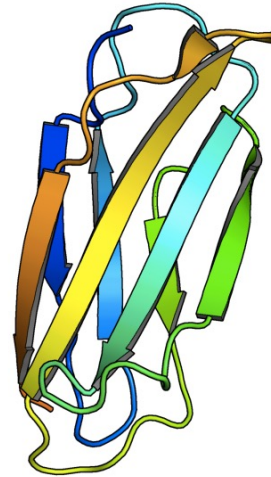


これらは同じトポロジーでは無い

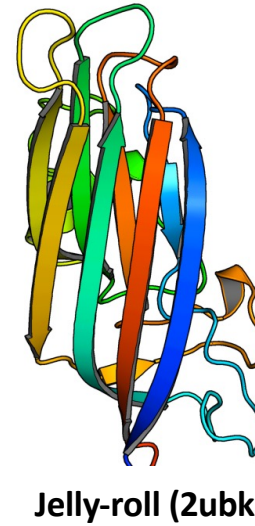
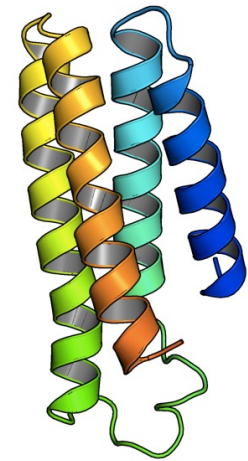
自然に見られる様々なタンパク質のトポロジー



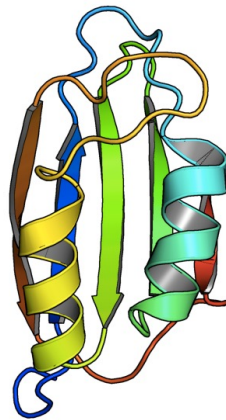
Immunoglobulin-like (1ten)



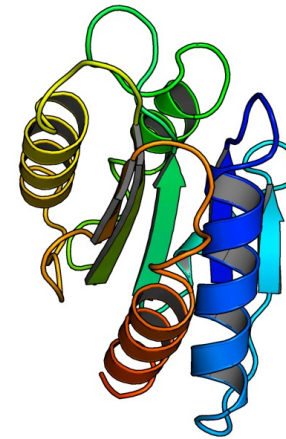
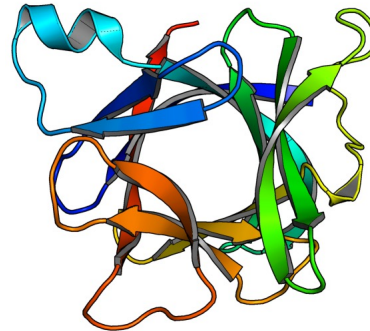
Up-Down(256b)



Ferredoxin-like (2acy)

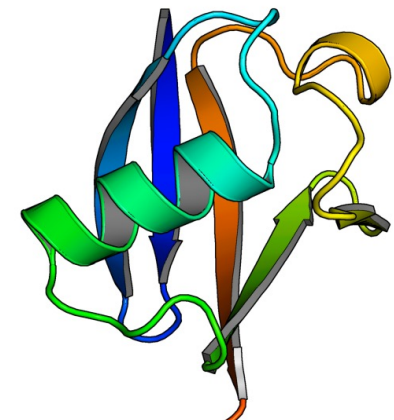


β -Trefoil (1i1b)

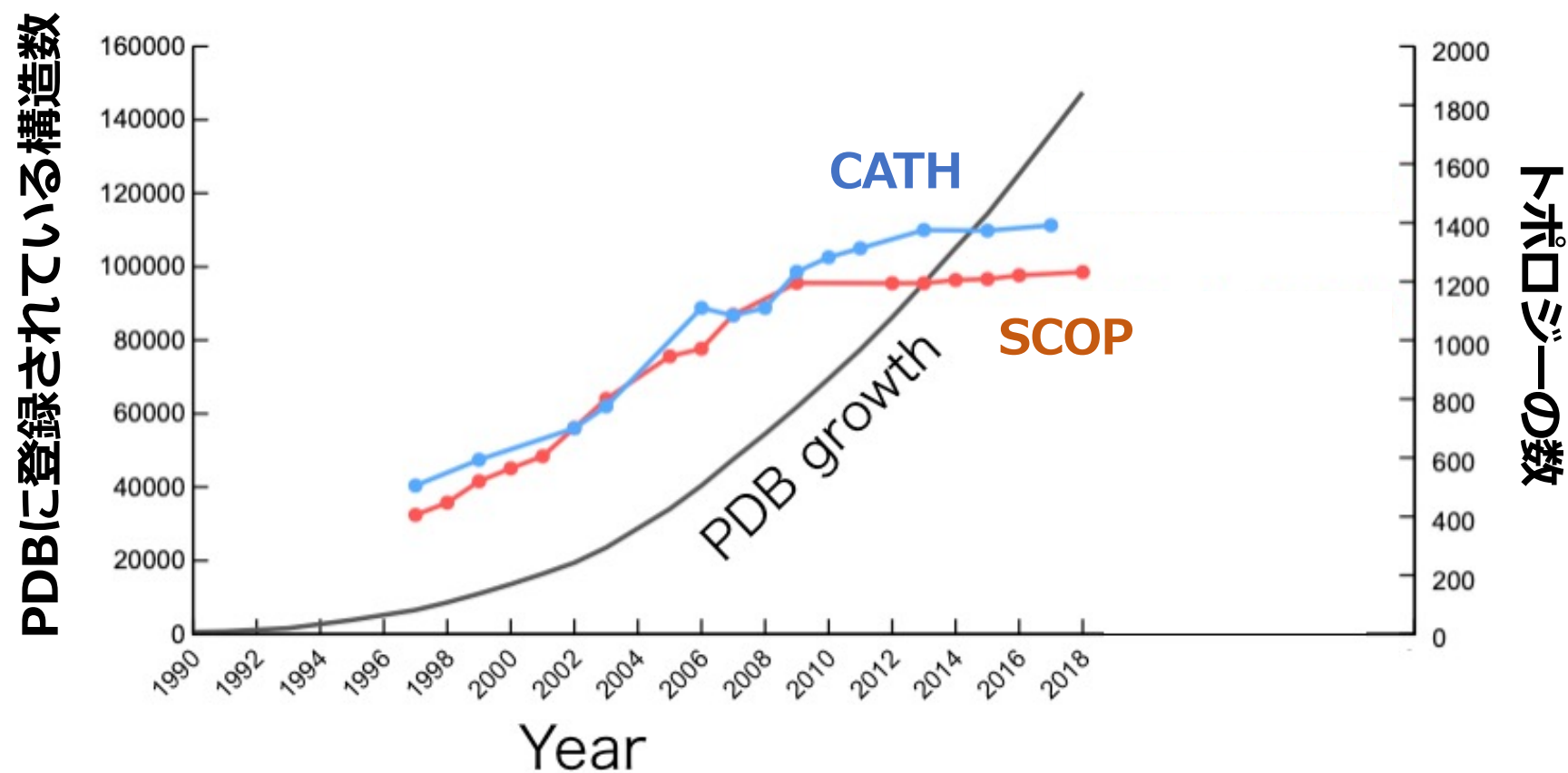


Flavodoxin-like (2fox)

UB rolls (1ubq)



近年、新規トポロジーは発見されていない



なぜ新規トポロジーは発見されないのか？



仮説1:

**物理化学的に折りたたみ可能な
トポロジーは自然に発見され尽くされたから**

なぜ新規トポロジーは発見されないのか？



仮説2:

**物理化学的に折りたたみ可能な
トポロジーは、まだまだ存在するが
自然が偶然見つけ出していないだけ**

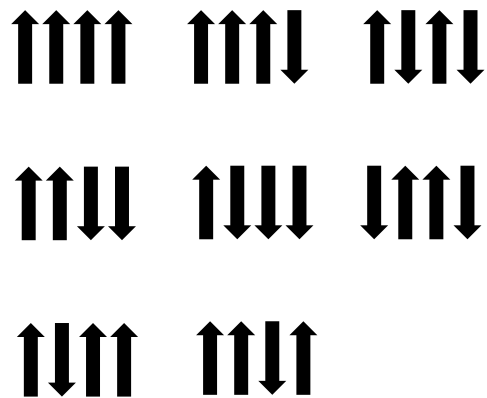
**新規トポロジーを持つタンパク質を
人工設計することで謎に迫る**

タンパク質構造データベースの網羅的検索

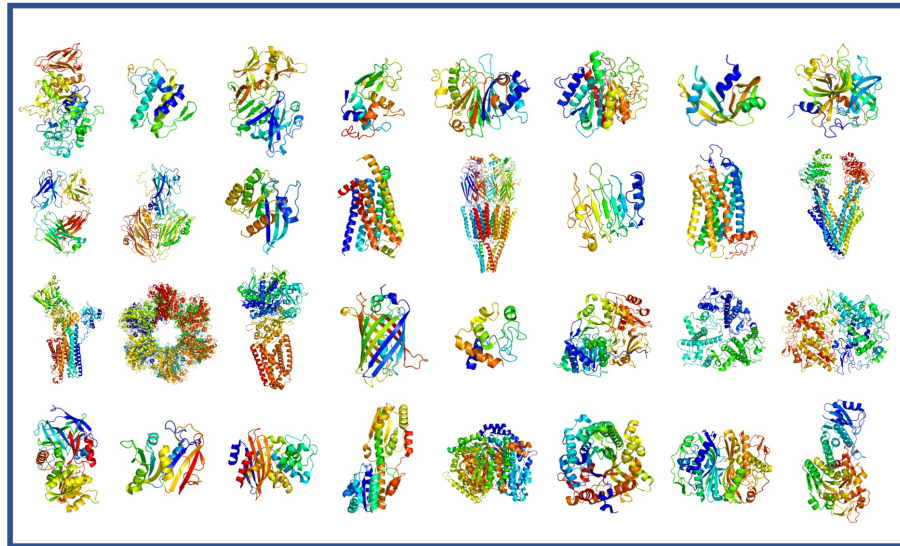
4本ストランドを持つタンパク質構造のトポロジーを分類

w/ G. Chikenji (Nagoya Univ)

4本 β ストランド



タンパク質構造データベース



4本ストランドの全トポロジー

βストランドの順序

[illegible]

4本ストランドの全トポロジー

βストランドの順序

βストランドの方向		1234	2134	1423	4123	1243	2143	4132	1432	1342	1324	3124	3142
	↑↑↓↓												
	↑↑↑↑												
	↑↑↑↑												
	↑↑↑↓												
	↑↑↑↓												
	↑↑↑↑												
	↑↑↑↓												
	↑↑↓↓												

4本ストランドの全トポロジー

βストランドの順序

βストランドの方向

	1234	2134	1423	4123	1243	2143	4132	1432	1342	1324	3124	3142
↑↑↑↓												
↑↑↑↑												
↑↑↑↓												
↑↑↓↑												
↑↑↓↓												
↑↓↑↑												
↑↓↓↑												
↑↓↓↓												

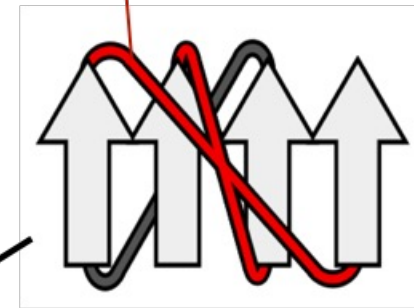
自然に観測されないトポロジー？

βストランドの順序

βストランドの方向

	1234	2134	1423	4123	1243	2143	4132	1432	1342	1324	3124	3142
↑↓↑↓												
↑↑↑↓												
↑↓↑↑												
↑↑↑↑												
↑↑↑↓												
↑↑↑↑												
↑↑↑↓												
↑↑↑↑												

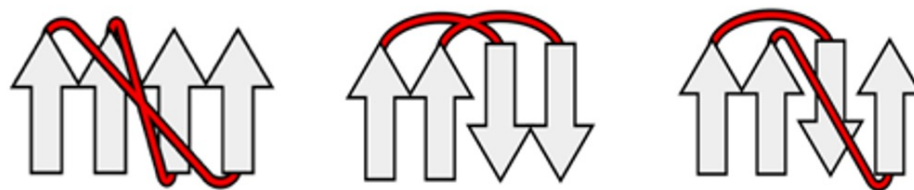
ループが交差



βシートのフラストレーションに関するルール

w/ G. Chikenji (Nagoya Univ)

(i) Connection overlap rule



(ii) Connection jump-distance rule

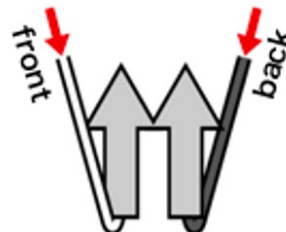
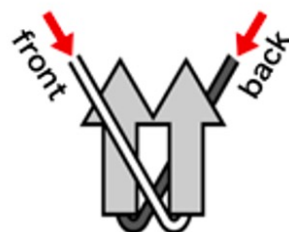


of strands > 3



of strands > 1

(iii) Connection ending rule



観測されないトポロジーの殆どはフラストレーションがある

βストランドの順序

	1234	2134	1423	4123	1243	2143	4132	1432	1342	1324	3124	3142
↑↓↑↓												
↑↑↑↑												
↑↓↑↑												
↑↑↑↓												
↑↑↑↑												
↑↑↑↓												
↑↑↑↑												

※ 青はフラストレーションを含まないトポロジー

フラストレーション無し+自然に観測されないトポロジー？

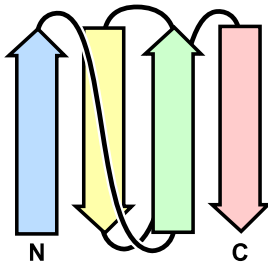
βストランドの順序

βストランドの方向

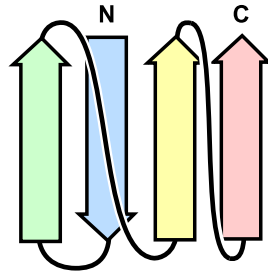
	1234	2134	1423	4123	1243	2143	4132	1432	1342	1324	3124	3142
↑↑↓↓												
↑↑↑↑												
↑↓↑↑												
↑↓↑↓												
↑↑↑↓												
↑↑↑↑												
↑↑↑↓												
↑↑↓↓												

発見した 8個の新規トポロジー

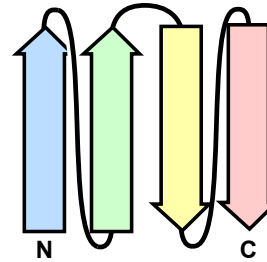
Topology A



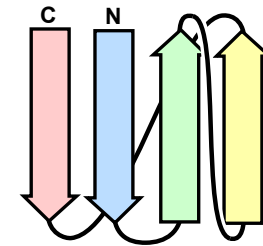
Topology B



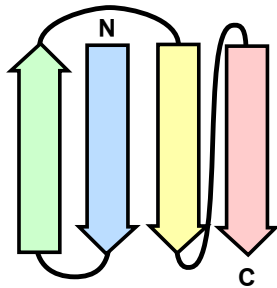
Topology C



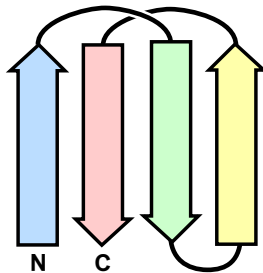
Topology D



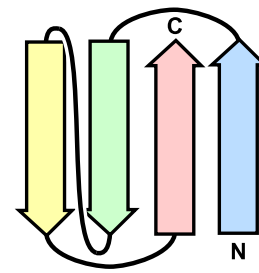
Topology E



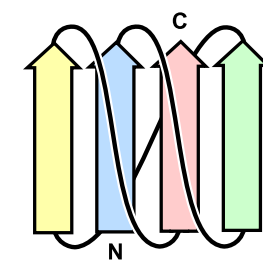
Topology F



Topology G



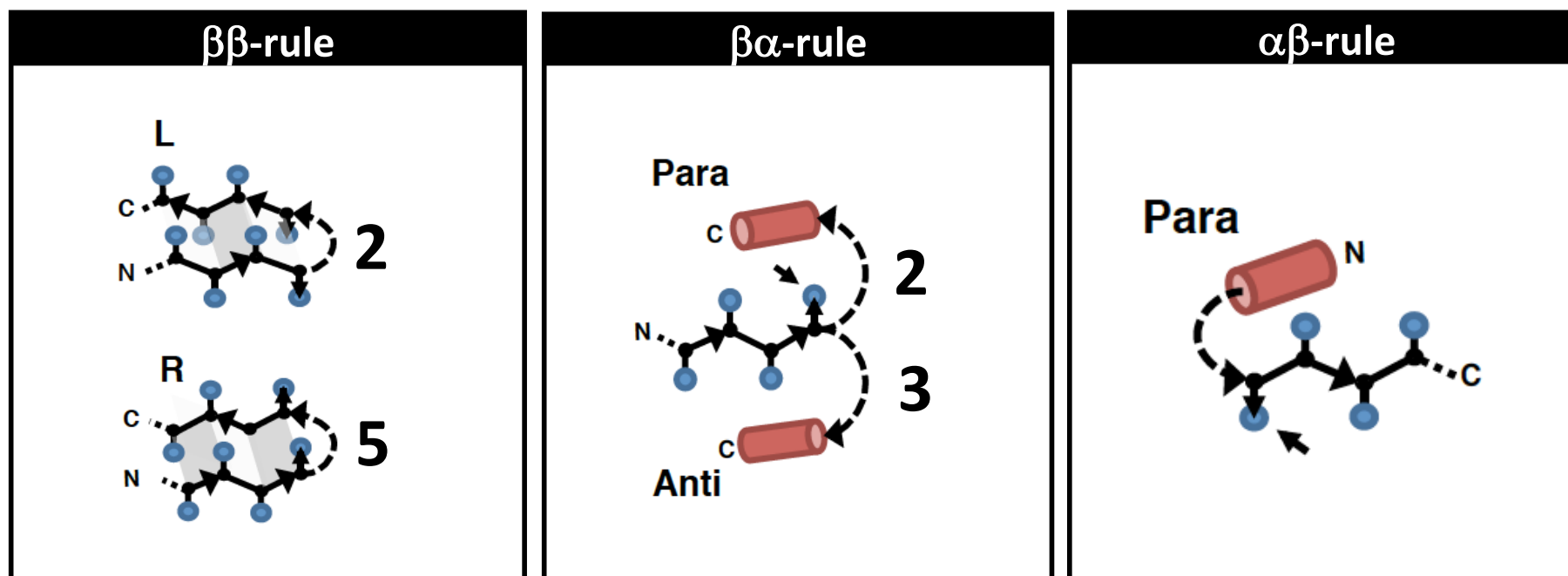
Topology H



8 個全てのトポロジーを人工設計する

タンパク質構造をデザインするためのルール

自然界のタンパク質構造のデータ解析 + 分子シミュレーションで発見

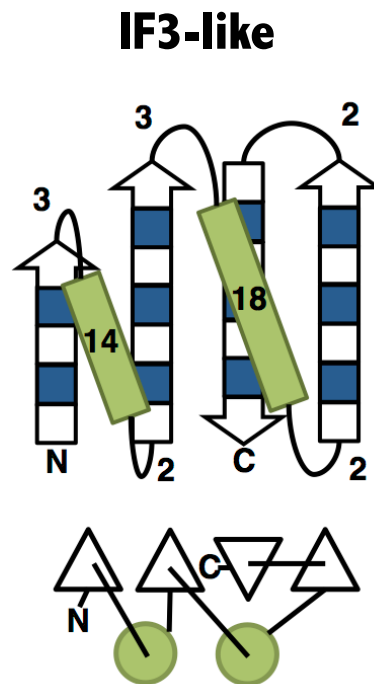


タンパク質の3次構造形成において、
アミノ酸配列の詳細ではなく主鎖構造の重要性を示すルール

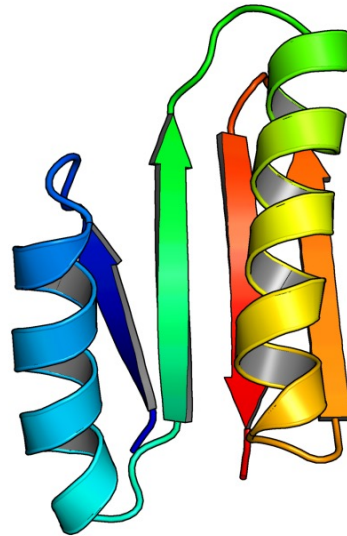
Nature, 491, 222-227(2012)
PNAS, 112,E5478-E5485 (2015)

ルールと計算機を用いたタンパク質のデザイン

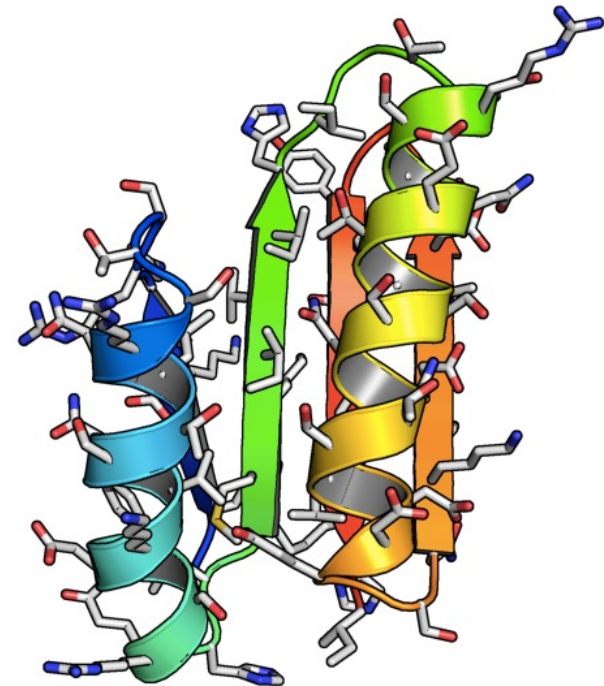
ルールに基づいて描いた
主鎖構造設計図



主鎖構造をつくる

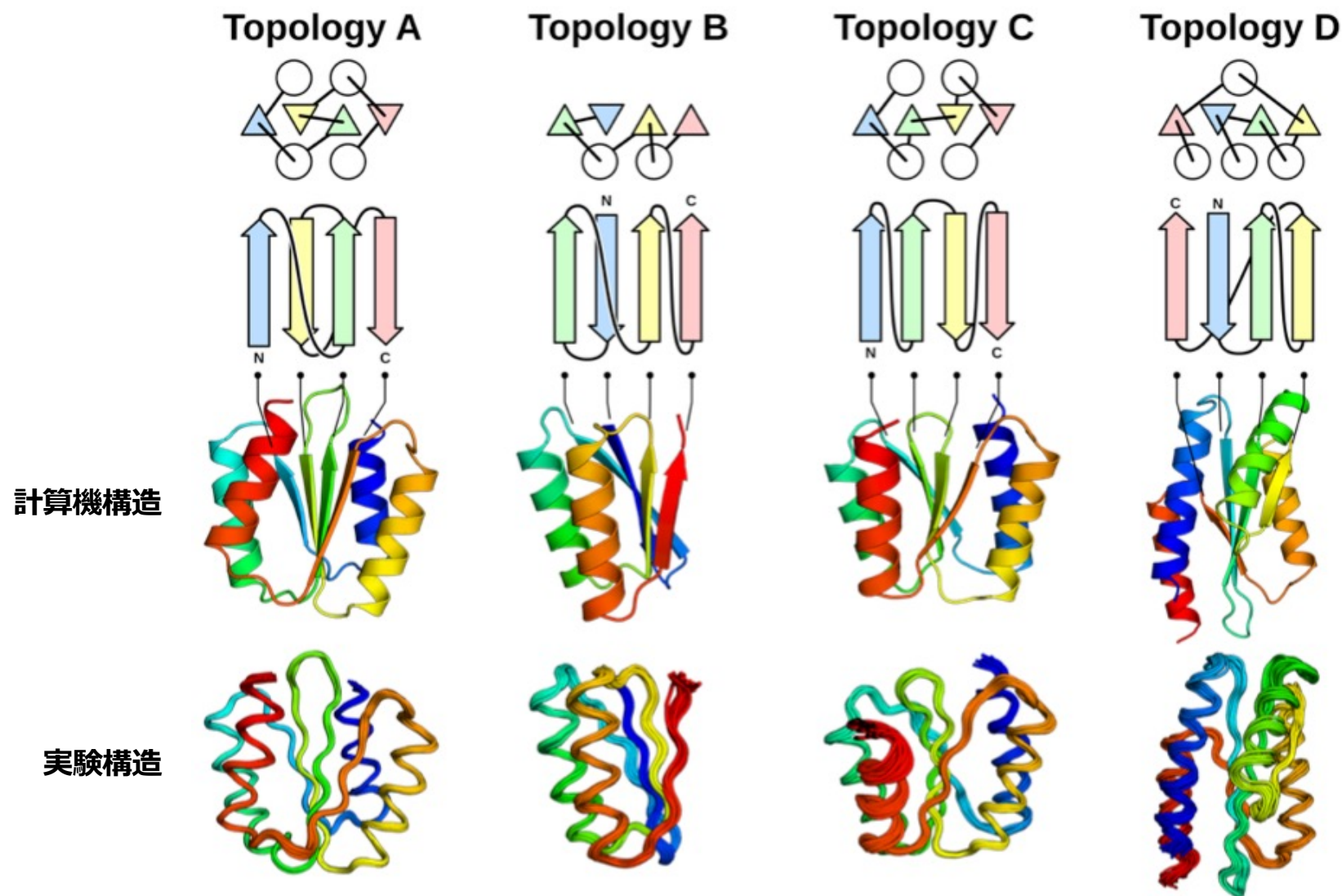


側鎖構造をつくる



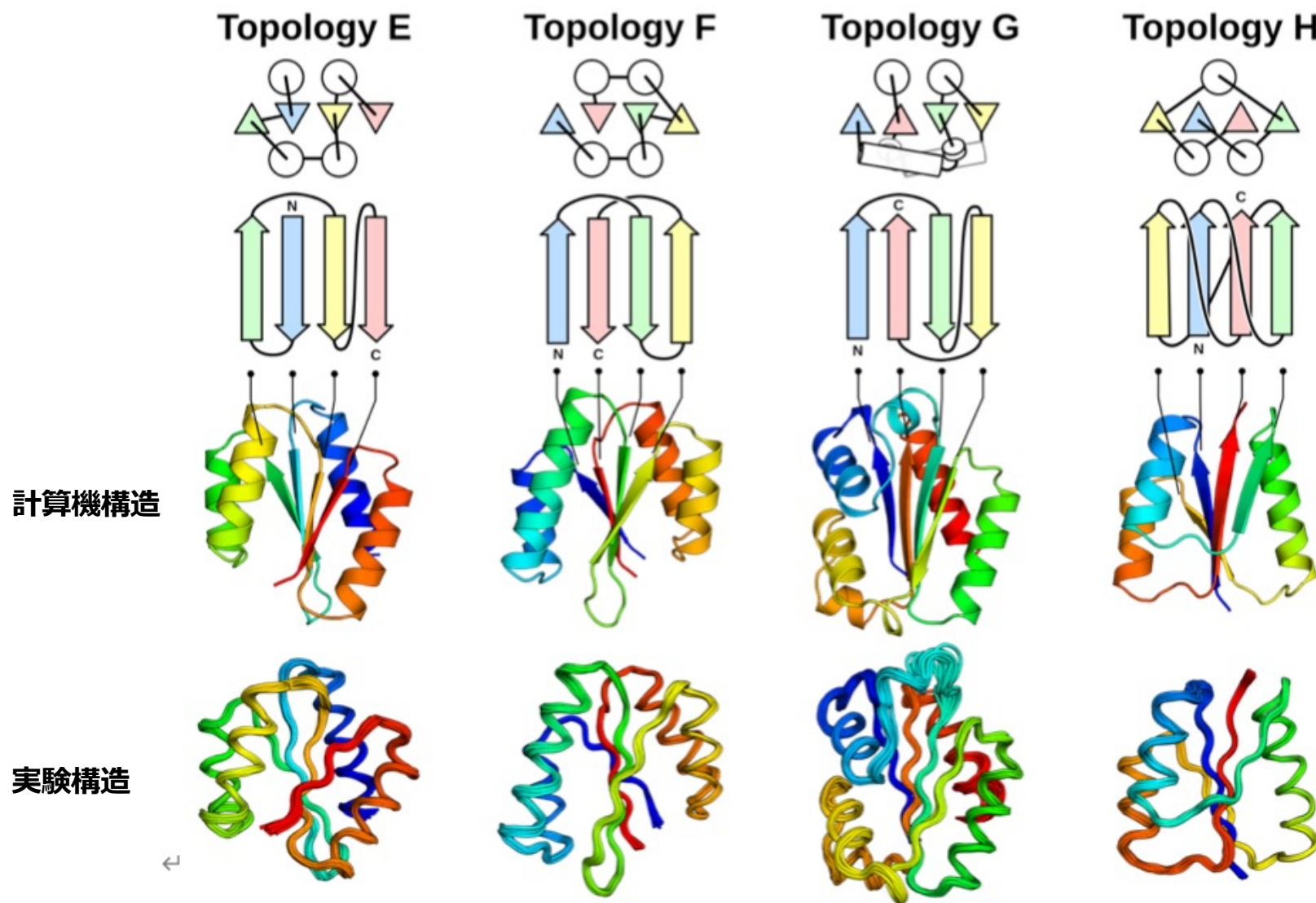
デザイン配列:
MVYIKELSES.....

全ての新規トポロジーの人工設計に成功



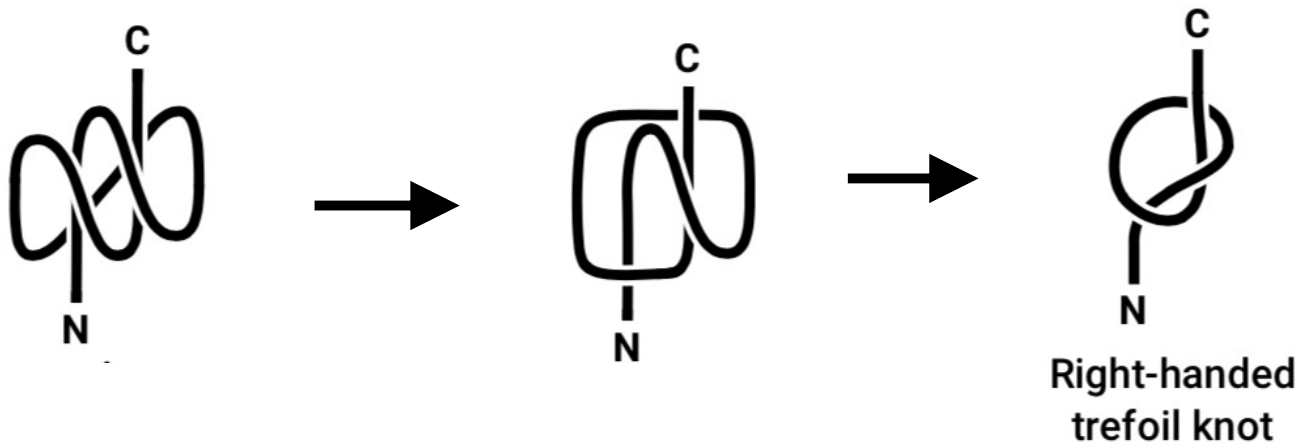
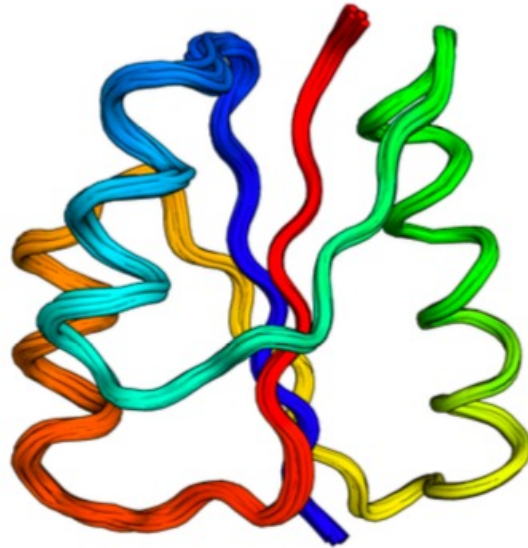
NMRs are solved by N. Kobayashi (RIKEN) & T. Sugiki (IPR, Osaka Univ)

全ての新規トポロジーの人工設計に成功



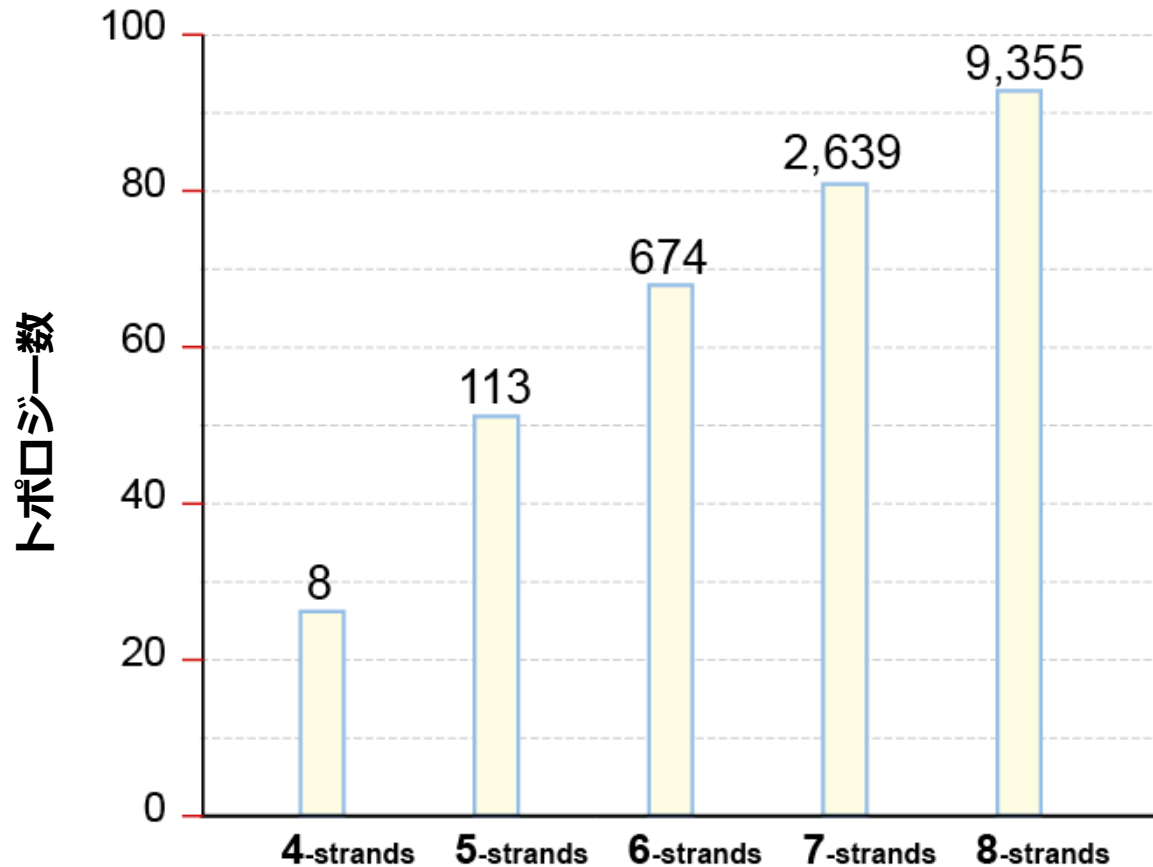
NMRs are solved by N. Kobayashi (RIKEN) & T. Sugiki (IPR, Osaka Univ)

Topology H は結び目を持つ



理論上、デザイン可能なトポロジーの数？

設計可能と予測される新規トポロジーの数



> 10,000個の $\alpha\beta$ 型トポロジーが設計可能と予測される
これに対して地球に存在する $\alpha\beta$ 型トポロジーは、たった400個！

なぜ新規トポロジーは発見されないのか？ の答え



物理化学的に折りたたみ可能な
トポロジーは、まだまだ存在するが
自然が偶然見つけ出していないだけ

Acknowledgement

- **Shintaro Minami (ExCELLS)**
- **Rie Koga (ExCELLS)**
- **George Chikenji (Nagoya Univ)**
- **Naohiro Kobayashi (RIKEN)**
- **Toshio Nagashima (RIKEN)**
- **Yoshitaka Ishii (RIKEN)**
- **Toshihiko Sugiki (IPR, Osaka Univ)**
- **Toshimichi Fujiwara (IPR, Osaka Univ)**
- **Yumiko Makino (NIBB)**
- **M. Sasai (Nagoya Univ)**
- **T. Kosugi (IMS)**
- 自然科学研究機構・岡崎共通研究施設
計算科学研究センター
- 理研NMR研究基盤
- 創薬等先端技術基盤
プラットフォーム (BINDS)
- 分子研機器センター
- アストロバイオロジー
センター公募研究