

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K22253

研究課題名（和文）天然タンパク質由来の機能をプログラムした人工タンパク質集合体の創成

研究課題名（英文）The creation of artificial protein assemblies with programmed function derived from natural proteins

研究代表者

鈴木 雄太（Suzuki, Yuta）

京都大学・白眉センター・特定助教

研究者番号：00827743

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では「シンプルなデザインによる人工タンパク質集合体」に「天然タンパク質由来の機能性」を取り入れることで、人工的に制御を可能とする機能性タンパク質集合体の創成を目的としている。当初の計画におけるデザインでは目的としていた機能性タンパク質集合体の形成には至らなかった。しかし、本計画におけるデザインの発想をもとに、機能搭載も可能な新規タンパク質集積デザインに至り、目的となるタンパク質集合体の形成に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質を人工的にデザインし、目的の機能を有したタンパク質集合体を作製することができれば、生体分子に匹敵する、あるいは自然界に存在しない人類に有益なバイオマテリアルの創成が可能となり、医薬・バイオテクノロジー分野をはじめとする様々な分野への応用展開が期待できる。本研究では、その第一歩となる集合体形成デザインの構築に成功した。本デザインを基盤とし目的の機能を搭載していくことで、将来、医薬・バイオテクノロジーをはじめとする様々な分野への革新的なイノベーションが期待できる。

研究成果の概要（英文）：The objective of this study is to create functional protein assemblies by incorporating natural protein-derived functionalities into simply designed artificial protein assemblies. The design in the original plan did not result in the formation of the desired functional protein assemblies. However, based on this design idea, I came up with a new protein assembly design that can incorporate functions more freely and succeeded in forming the desired protein assembly.

研究分野：生体関連化学

キーワード：タンパク質デザイン タンパク質工学 機能性タンパク質集合体 バイオマテリアル

1. 研究開始当初の背景

科学者が「デザイナー」となって思いのままに、タンパク質の機能や構造をデザインしコントロールすることが可能となれば、「必要な時、必要な機能を自発的に発動するバイオナノロボット」が、医薬・バイオテクノロジー分野で活躍する時代もそう遠くないのかもしれない。しかしながら、最先端の設計技術をもってしても、タンパク質の有する複雑性や多様性から、人工的に高次構造体を構築することは容易ではなく、高度な技術を必要とする上、成功確率が低く、多くの試行錯誤を必要としているのが現状である。もし科学者が、自然界に存在する様々な機能・構造を有するタンパク質を部品として自在に組み立て、望む機能を発現することを可能とする新たなデザインを創出できれば、将来、医薬・バイオテクノロジーをはじめとする様々な分野への革新的なイノベーションが期待できる。

2. 研究の目的

本研究は、タンパク質の機能や構造を人工的にデザインしコントロールすることで、ライフサイエンス・バイオテクノロジー分野において活躍する「必要なとき、必要な機能を自発的に発動することができるバイオナノロボット」の創成を最終的な目標としている。その足がかりとなる本萌芽研究では、「シンプルなデザインによる人工タンパク質集合体」へ「天然タンパク質由来の機能性」を取り入れることで、人工的に機能制御可能とする「機能性を有したタンパク質集合体（機能性バイオマテリアル）」の創成を目指し研究を推進した。

3. 研究の方法

（1）融合タンパク質による機能性タンパク質集合体形成

本研究では、機能性を有したタンパク質集合体の構築にあたり、天然由来の構造変化能を有するタンパク質を「機能性パーツ」、スプリット GFP テクノロジーを「コネクター」とし、両者を遺伝子工学にて融合したタンパク質を作製した。スプリット GFP とは、蛍光タンパク質である GFP を2つに分割し蛍光を失活させたタンパク質断片である。この2つの断片が十分な距離に近づいた時、GFP が再構築され蛍光を発することから、コネクターとして利用できると考えた。また、このテクノロジーを取り入れた理由として、「光る」ことで「つながる（集合体の構築）」ことが容易に視認可能であるため、簡便かつ有効な手法であると考え選択した。このスプリット GFP 両断片の中間に、機能性パーツを挿入した融合タンパク質をユニットとして使用することで、機能性を有したタンパク質集合体の構築を試みた。

（2）選択性を取り入れた新規タンパク質集積デザインの創出

当初予定していた上記の研究と並行し、集合体構築に必要な接続方法の変更を試みた。新たなデザインとして、異なるタンパク質を人工的につなぎ合わせることを可能とする手法を取り入れることで、（1）とは異なる形成方法に基づいた機能性タンパク質集合体の構築を目指し研究を推進した。

4. 研究成果

(1) 融合タンパク質による機能性タンパク質集合体形成

当初の計画通り、まず遺伝子工学により目的の融合タンパク質を発現するプラズミドを作製し、大腸菌に導入、形質転換をおこなった。その後、大腸菌によるタンパク質発現条件を検討している最中に、GFPの蛍光が確認された。これは、大腸菌内で融合タンパク質が発現されると同時に、スプリット GFPの再構築を介したタンパク質集合体の構築が行われていることを示唆した。しかしながら、確認されていた多くの蛍光物質（目的のタンパク質集合体）は、超音波による大腸菌の破碎後の遠心による細胞片などの不要物の除去の際、共に沈殿してしまっただけでなく、上清にも蛍光物質が見られたため、解析を行なったが想定していたマイクロメートルサイズの連結物を確認することは出来なかった。また、沈殿物からの蛍光物質の回収も試みたが成功には至らなかった。水溶性を高めるため、タンパク質へ変異導入や各々の部位の間にリンカーを導入するなど、検討を試みたが、当初想定していた集合体の構築には至らなかった。そのため、これらと並行して、本デザインの発想を基盤とした新規デザイン(2)にも着手した。

(2) 選択性を取り入れた新規タンパク質集積デザインの創出

本計画での基盤であった上述の設計(1)が難航していたため、(1)に代わる集合体形成デザインの確立を試みた。まず集合体形成の基盤となる目的タンパク質の作製を検討したところ、可溶性にて必要量を得ることに成功した。そののち、このタンパク質へ改良を加えていくことで、デザインに即したタンパク質集合体の構築を確認した。この集合体の詳細な構造の解析は、クライオ電子顕微鏡や原子間力顕微鏡を用いて検討することで明らかにすることができると考えられる。また、この新たなデザインを基盤に、「機能」を取り入れていくことで、本研究目的である機能性タンパク質集合体の構築が可能になると考えられる。

代表研究者である鈴木は、本研究基金を採択いただいた2019年度より、本研究課題の将来的な目標と掲げている「バイオナノロボットの創成」に向けた研究を、京都大学白眉プロジェクトにて完全に独立した立場として0から研究をスタートした。そのため、申請時に本研究計画の予備データがなかったことも相まって、本研究期間において、当初予定していた計画通りに研究を進めることが出来なかった。しかし、当初の研究計画のデザインをもとに、新たなデザインの発想に至ることができ、当初の想定以上に面白い研究(芽)につなげることが出来ており、徐々にではあるが新しいデザインによる成果が出てきている。本研究期間における上記結果を踏まえ、将来目標のバイオナノロボットにつながる機能性タンパク質集合体の構築を目指し研究を継続する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鈴木雄太
2. 発表標題 タンパク質デザインによるバイオナノロボットの創成を目指して
3. 学会等名 生命創成探究センター・分子科学研究所主催学術研究会 “生命の分子システムの理解に向けて何を創れば良いか？”（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 Yuta Suzuki
2. 発表標題 Rational Design of Protein Assembly
3. 学会等名 第60回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 鈴木雄太
2. 発表標題 タンパク質デザインによるバイオナノロボットの創成を目指して
3. 学会等名 第33回生物無機化学夏季セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Yuta Suzuki
2. 発表標題 Protein Design and Engineering Toward the Functional Biomaterials
3. 学会等名 SPIRITS International Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Yuta Suzuki
2. 発表標題 Protein Design and Engineering toward Functional Biomaterials
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

鈴木雄太, “タンパク質デザインによる機能性2Dバイオマテリアルの創生および今後の展開” 蛋白質科学学会アーカイブ, 12, eEssay, 09 (2019)
鈴木雄太, “バイオナノロボット創生を目指したタンパク質デザイン工学” 化学と工業, 72-7, August 2019
Protein Design & Engineering Laboratory https://www.yutasuzukilab.com/

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------