

研究区分	教員特別研究推進（地域振興）
------	----------------

研 究 テーマ	がん治療戦略のための AI を活用したシェイプアップ構造解析				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大
	研究協力者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	橋本 博
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	原 幸大

講演題目
天然変性タンパク質のシェイプアップ構造解析
研究の目的、成果及び今後の展望
【研究の目的】タンパク質中で特定の構造を持たない天然変性領域は、他のタンパク質や核酸と相互作用することで、転写やシグナル伝達などの重要な生命現象を制御している。これらの相互作用の破綻は筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患の発症にも密接に関わっていることが報告されている。一方で、αヘリックスやβシートからなる疎水コアを持つドメイン構造とは異なり、電子密度を得ることが困難な天然変性領域は構造解析の標的として敬遠されがちである。天然変性領域に富むタンパク質の構造情報を得るためには、ドメイン構造を持つ他のタンパク質と結合させることで、熱力学的に安定なタンパク質複合体を調製することが最良の策と言える。通常、標的タンパク質分子の相互作用領域を決定するには、膨大な生化学実験と時間を要するが、本研究ではタンパク質中で熱ゆらぎの大きい領域を AlphaFold3（Google DeepMind 社）を用いた AI 構造予測により特定し、シェイプアップすることで原子レベルでの構造解析を効率的に行うことを目指す。 【成果及び今後の展望】本研究ではモデルタンパク質として、天然変性タンパク質 kleisin に着目し、ヘリクスターンヘリックスが数十回繰り返されたドメイン構造を持つ HEAT リピータンパク質との複合体の AI による構造予測を行い、予測結果に基づき、組換えタンパク質を調製し、プルダウン実験により相互作用を評価する。得られた結果をインプットデータとして、構造予測を繰り返し行うことで相互作用に必須でない余分な領域を削ぎ落とし、構造解析に適したタンパク質複合体に最適化する。kleisin は染色体の接着や凝縮を担う環状構造からなる SMC（Structural maintenance of chromosomes）タンパク質複合体のサブユニットの一つとして知られており、その名称はギリシャ語で環を閉じることを意味する kleisimo に由来する。kleisin は中央領域で HEAT リピータンパク質と結合することで染色体構築に必須の DNA ループ形成を促進する働きを持つ。本年度は kleisin と HEAT リピータンパク質の複合体の構造解析を目指し、AI 構造予測と生化学解析を組み合わせた相互作用の検証を進めた。具体的には、kleisin の様々な領域を用いて、HEAT リピータンパク質との複合体の構造予測を行ったのち、共発現ベクターを構築し、プルダウン実験により複合体形成を評価した。その結果、kleisin はこれまで報告されていた領域よりも長い領域で HEAT リピータンパク質と相互作用することが予測された。実際に従来よりも領域を伸ばすことで熱力学的に安定な複合体の調製に成功した。得られた組換えタンパク質を用いて、結晶化スクリーニング、及びグリッド作製に進んだ。結晶化スクリーニングでは有望な結晶を得ることができなかったが、クライオ電顕測定では良好な観察結果が得られ、原子分解能での構造解析に成功した。本研究で用いた構造予測と実験を組み合わせたアプローチは、他のタンパク質複合体の調製や構造解析を行う上での有用性を示すことができた。