

大腸菌鞭毛を連結する人工タンパク質ナノケージの作成：計算機によるバインダー設計と実験的評価

(慶大理工¹・信州大繊維²) ○土方 太陽¹、川上 了史¹、新井 亮一²、宮本 憲二¹
 Creating an artificial protein nanocage for linking *E. coli* Flagella: Computational binder design and experimental evaluation(¹Keio University, ²Shinshu University) ○ Taiyo Hijikata¹, Norifumi Kawakami¹, Ryoichi Arai², Kenji Miyamoto¹

Resting cell reactions are used as a method to produce compounds using whole cells without the need for enzyme purification. However, there are problems such as contamination by other microorganisms, and thus, selective cell recovery technology is required. In this study, we aim to develop a cell recovery technology using *E. coli* as a model organism. We hypothesized that if multiple *E. coli* cells are connected by a linker molecule specifically bound to a cell surface component, the cells would form aggregates that can be easily recovered from the solution. To test this hypothesis, we designed a peptide binder that specifically interacts with the *E. coli* flagellar protein FliD and displayed it on the surface of our designed protein nanocage, TIP60 (b-TIP60). The b-TIP60 has a spherical shape and can display up to 60 binder molecules. The structural analysis of b-TIP60 showed that it maintained a shape close to the original shape, suggesting that the structure was constructed as designed.

Keywords : Protein nanocage; TIP60; RFDiffusion; AlphaFold2

休止菌体反応は、酵素を精製することなく、細胞を丸ごと利用して化合物生産を行える手法として利用される。他方で、異種微生物の混入などの問題があり、選択的な細胞回収技術が求められている。本研究では、大腸菌をモデルに、選択的に細胞を絡めとる回収技術の開発を目的とする。具体的には、当研究グループが独自に開発したサッカーボール状タンパク質ナノ粒子 TIP60 の表面に、大腸菌と特異的に相互作用するペプチドバインダーを提示することで、大腸菌を巻き込んだ相互作用が起きる可能性を考えた。そこで、まず大腸菌べん毛タンパク質 FliD を対象としたペプチドバインダーの設計を行い、バインダーを融合した TIP60(b-TIP60)の設計を行った。得られた分子については、構造の評価を行った。その結果、b-TIP60 はオリジナルの形状に近い形を維持しており、構造上は設計通りに構築できたことが示唆された。

