

**Confidential**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Date | 2022/09/22 | Description | 新規作成 | | | | | | |
| Issue | 横河電機 MKHQ INVC | | | Author |  | Check |  | Approval |  |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |

Form Y-E31-2　Size A4

**３．２　要素技術の現状**

**３．２．１　類似度90%以下の変異体の創製**

* Rosettaを利用した変異体探索

本項では、変異数制約を満たすWild-Typeの変異体候補を探索・生成する方法を確立した。具体的には、ソフトウェアRosetta（酵素設計のためのRosetta Enzyme Designプロトコル）の設計プロトコルに変異数制約を加えた上位最適化を組み込むことで、全探索やランダム探索よりも効率的に変異体を生成した。Rosettaの設計プロトコルは、Cartesian DDGを使用した。Cartesian DDGは、Wild-Typeのアミノ酸配列の変異位置・残基を入力すると、それに整合するように最小化されたエネルギースコア（Rosettaスコア）と構造データを出力する。しかしながら、指定した変異数内での候補配列を得るには、全探索やランダム探索によって与える方法は非効率である。よって、候補生成の効率を上げるために、Cartesian DDGに上位最適化を組み込んだ技術を検討した。

図1に今回検討した技術の概要を示す。指定した変異数内の変異位置・残基の組を、上位最適化の最適化変数に設定し、目的関数値であるエネルギースコア（Rosettaスコア）を最小化するような、最適化問題を構築した。最適化アルゴリズムはLocal Searchを使用したため、局所解のいずれかに収束する。

図2に、1CBHのWild-Typeに三点変異を指定した場合の探索で得た、変異体の立体構造例を示す。三点変異体のアミノ酸残基に変異した部位を紫色で示している。Wild-TypeのRosettaスコアは-127.9だが、三点変異体のRosettaスコアは-157.8であるため、大きく改善した変異体が得られていることが確認できる。

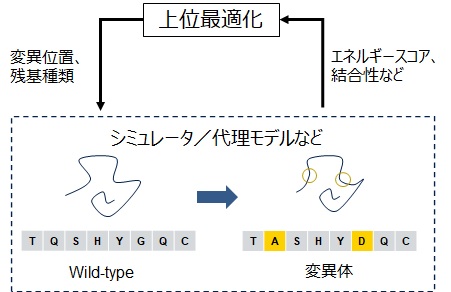


図1：変異体探索プロトコルの概要

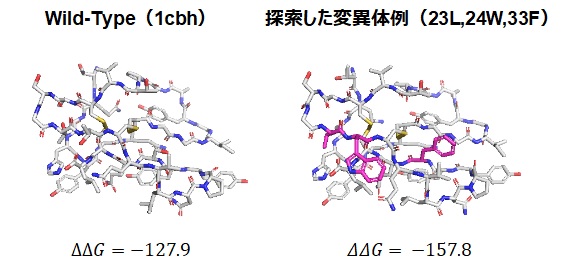


図2：1CBHの三点変異体の主鎖構造（紫色は変異部分）

**参考文献**

1. J. Jumper et al.: “Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold”, Nature (2021)
2. M. Mirdita et al.:“ColabFold: Making protein folding accessible to all”, Nature (2021)
3. T. Kosugi et al.:“Solubility-Aware Protein Binding Peptide Design Using AlphaFold”, Biomedicines, Vol.10, No.1626 (2022)
4. 中林：「2019年度 共同研究最終報告書「人工セルラーゼ設計手法の開発に向けた要素技術の調査研究」」（2020）