

巨大中空錯体への一分子包接によるタンパク質の安定化

○海老原梨沙¹・中間貴寛¹・矢木真穂²・藤田大士³・藤田誠^{1,2,4}(¹東大院工, ²分子研, ³京大 iCeMS, ⁴東大国際高等研)

Protein Stabilization by Single-Molecule Encapsulation in Metallo-Cages (Grad. School of Engineering, The Univ. of Tokyo¹, Institute for Molecular Science², iCeMS, Kyoto Univ.³, UTIAS, The Univ. of Tokyo⁴) EBIHARA, Risa¹; NAKAMA, Takahiro¹; YAGI-UTSUMI, Maho²; FUJITA, Daishi³; FUJITA, Makoto^{1,2,4}

タンパク質の不可逆的な失活は、多くの場合に高次構造の変性に伴う凝集・沈殿に起因する。そのため、分子間の相互作用を妨げることでタンパク質の安定性の向上が期待される。固定化は一般的な手法だが、担持剤との相互作用のためにタンパク質の天然の機能・構造を保持することは困難である。

本研究では、巨大中空金属錯体への一分子包接によるタンパク質の安定化を報告する(Fig. 1)。有機二座配位子(L)と Pd(II)イオン(M)との自己集合により構築される $M_{12}L_{24}$ 錯体は、タンパク質を内包できるほどの巨大な一義内部空間を持つ(Fig. 1a)^{1,2}。そのため、従来のミセルやポリマーなどのホスト分子と異なり、 $M_{12}L_{24}$ 錯体の大きさを調整することでタンパク質一分子を精密に包接できると期待した。また、錯体とタンパク質の相互作用が小さいため、タンパク質の機能・構造を保持しながら安定化することができる^{1,2}。配位子とタンパク質 N 末端との縮合、続く Pd(II)イオンとの錯形成により包接されたタンパク質は、分析超遠心(AUC)、塩析による包接体の分離、¹H NMR diffusion-ordered spectroscopy (DOSY)により同定した。特に AUC 測定では、リゾチーム一分子包接体に合致する分子量成分が主として観測され、それより大きな構造体は検出されなかった。リゾチームをはじめ、最大直径 6.5 nm までのさまざまなサイズや等電点を持つ計 18 種類のタンパク質の単分子包接を達成した(Fig. 1b)。

包接されたタンパク質の有機溶媒に対する構造的・機能的安定性を評価すると、13 種類のタンパク質で顕著な安定化が見られた。例えば、遊離のリゾチームではアセトニトリル 90%中で、その二次構造が崩れて円偏光二色性(CD)の信号が減少するのに対し、包接されたリゾチームは二次構造を完全に保持していた。¹H DOSY NMR や動的光散乱(DLS)において、錯体への包接によるタンパク質の凝集の抑制が観測された(Fig. 1c)。すなわち、遊離のタンパク質が不可逆的に凝集・沈殿する変性条件において、単分子で包接し分子間の相互作用を妨げることでタンパク質が安定化することがわかった。¹H-¹⁵N HSQC NMR 測定では、包接されたタンパク質において溶液中で不安定な変性中間体構造を観測することができた。このように、 $M_{12}L_{24}$ 中空錯体の孤立空間への一分子包接は、新たなタンパク質安定化手法として、タンパク質のキャリアや不安定構造の解析手法として活用されることが期待される。

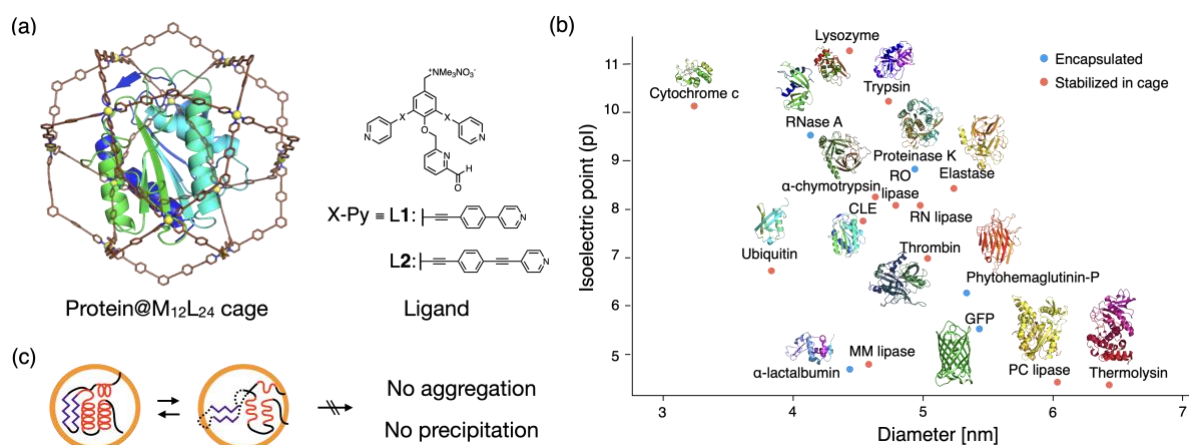


Fig. 1 (a) Protein encapsulated in an $M_{12}L_{24}$ cage. (b) Scope of protein encapsulation and stabilization in the cages. (c) Isolation of a single protein in the cage prevents its aggregation, resulting in the significant stabilization.

1) D. Fujita *et al.*, *Chem* **2021**, *7*, 2672–2683. 2) T. Nakama *et al.*, *Chem. Sci.* **2023**, *14*, 2910–2914.