

## 見えないものを観るタンパク質微結晶エンジニアリング

(東科大生命<sup>1</sup>・ASMat<sup>2</sup>) ○上野 隆史<sup>1,2</sup>

Protein Microcrystal Engineering for Observing Invisible Structures (<sup>1</sup>*School of Life Science and Technology*, <sup>2</sup>*ASMat, Institute of Science Tokyo*) ○Takafumi Ueno<sup>1,2</sup>

We have developed a technique capable of determining the structures of chemical reaction intermediates, which were previously considered difficult to capture, with high resolution. The key feature of this research lies in constructing an environment within protein crystals that allows for real-time tracking of target reactions at the atomic level through protein crystal engineering. Using this composite crystal, we successfully tracked the reactions of metal complexes in detail at the atomic level through time-resolved serial femtosecond crystallography (TR-SFX). Specifically, the synthetic metal complex  $\text{Mn}(\text{CO})_3$  was immobilized within the pores of hen egg-white lysozyme (HEWL) crystals and irradiated light to induce Mn–CO bond cleavage. This enabled us to capture multiple intermediates involved in the dissociation process of CO. By establishing this approach, the scope of chemical reactions observable via TR-SFX was expanded from natural enzymatic reactions to artificial molecular reactions. These findings demonstrate the potential of protein crystal engineering for detailed structural analysis of reaction intermediates and provide a new exploration method for understanding enzymatic systems and designing novel catalytic systems.

**Keywords :** TR-SFX; Protein microcrystal; In-cell crystal; Organometallic complex

これまでの技術では捕捉が困難とされていた化学反応中間体の構造を、高分解能で決定する技術を開発した。本研究の特徴は、タンパク質微結晶エンジニアリングによって、標的とする反応を原子レベルでリアルタイムに追跡可能な環境をタンパク質結晶内に構築した点にある。このタンパク質結晶を用いた時間分解連続フェムト秒結晶構造解析 (TR-SFX) によって、金属錯体の反応を原子レベルで詳細に追跡することに成功した。具体的には、合成金属錯体  $\text{Mn}(\text{CO})_3$  を鶏卵白リゾチーム (HEWL) 結晶内の細孔環境に固定化し、この複合結晶に光照射を行うことで、Mn–CO 結合の開裂を誘起し、CO の解離過程に含まれる複数の中間体を捉えることができた。このアプローチの確立により、TR-SFX で観察可能な化学反応の対象範囲は、天然酵素反応を超えて人工分子反応にまで拡張できた。本研究の成果は、反応中間体の詳細な構造解析を可能にするタンパク質結晶工学の潜在能力を示しており、酵素システムの理解にとどまらず、新規触媒システムの設計に向けた新しい探索手法としての可能性を開くものである。

- 1) B. Maity, et al., *Nat. Commun.*, 15, 5518 (2024). DOI:[10.1038/s41467-024-49814-9](https://doi.org/10.1038/s41467-024-49814-9)
- 2) M. Kojima, et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 121, e2322452121 (2024). DOI:[10.1073/pnas.2322452121](https://doi.org/10.1073/pnas.2322452121)
- 3) M. Kojima, et al., *Biomater. Sci.*, 11, 1350-1357 (2023). DOI:[10.1039/D2BM01759H](https://doi.org/10.1039/D2BM01759H)
- 4) B. Maity, et al., *Nat. Commun.*, 8, 14820 (2017). DOI:[10.1038/ncomms14820](https://doi.org/10.1038/ncomms14820)