

Academic Program [Oral B] | 17. Biofunctional Chemistry, Biotechnology : Oral B

📅 Thu. Mar 27, 2025 3:55 PM - 5:15 PM JST | Thu. Mar 27, 2025 6:55 AM - 8:15 AM UTC 🏛️
[A]A301(A301, Bldg. 1, Area 3 [3F])

[[A]A301-2vn] 17. Biofunctional Chemistry, Biotechnology

Chair: Norifumi Kawakami, Takahiro Nakama

🇯🇵 Japanese

3:55 PM - 4:15 PM JST | 6:55 AM - 7:15 AM UTC

[[A]A301-2vn-01]

Development of smart Bio-Ink based on the protein nanocage TIP60

○Maika Yamashita¹, Norifumi Kawakami¹, Ryoichi Arai², Kenji Miyamoto¹ (1. Keio University, 2. Shinshu University)

🇯🇵 Japanese

4:15 PM - 4:35 PM JST | 7:15 AM - 7:35 AM UTC

[[A]A301-2vn-02]

【Withdrawn】

🇬🇧 English

4:35 PM - 4:55 PM JST | 7:35 AM - 7:55 AM UTC

[[A]A301-2vn-03]

Isolation of Monomers from Stable Dimeric Proteins by Confinement in Coordination Cages

○Risa Ebihara¹, Takahiro Nakama¹, Ken Morishima², Masaaki Sugiyama², Makoto Fujita^{1,3,4} (1. Grad. School of Engineering, The Univ. of Tokyo, 2. Inst. for integrated Radiation and Nuclear Science, Kyoto Univ., 3. Inst. for Molecular Science, 4. UTIAS, The Univ. of Tokyo)

🇬🇧 English

4:55 PM - 5:15 PM JST | 7:55 AM - 8:15 AM UTC

[[A]A301-2vn-04]

Entrapment of Weak Protein–Lipid Complex within Spherical Coordination Cages to Analyze Its Transient Structure

○Takahiro Nakama¹, Miri Tadokoro¹, Hongkun Liu¹, Maho Yagi-Utsumi^{2,4}, Koichi Kato^{2,4}, Makoto Fujita^{3,4} (1. Grad. School of Engineering, The University of Tokyo, 2. Grad. School of Pharmaceutical Science, Nagoya City University, 3. UTIAS, The University of Tokyo, 4. Institute for Molecular Science (IMS))

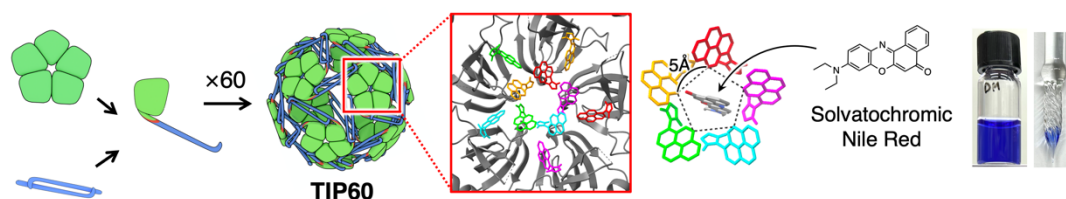
人工タンパク質ナノケージ TIP60 をベースとしたスマートバイオインクの開発

(慶大理工¹・信州大繊維²) ○山下 舞佳¹・川上 了史¹・新井 亮一²・宮本 憲二¹
 Development of smart Bio-Ink based on the protein nanocage TIP60 (¹ Keio University, Osaka University, ²Shinshu University) ○Maika Yamashita,¹ Norifumi kawakami,¹ Arai Ryoichi, Kenji Miyamoto¹

The solvatochromic dye Nile Red (NR) was encapsulated in the engineered protein nanocage TIP60, which was modified with pyrenyl groups on the interior surface. Cryo-EM revealed that the pyrenyl groups interacted with each other. The solution color became blue suggesting that the NR molecule was surrounded by a polar environment despite the hydrophobized interior surface. The blue color persisted even after application onto paper. Interestingly, when the paper was pre-treated with sodium dodecyl sulfate (SDS), the blue color transitioned to red, likely due to SDS disrupting hydrophobic interactions and altering the local polarity around the NR molecule. Furthermore, reversible color changes were observed upon heating and cooling the paper. These findings indicate that the polar environment provided by the engineered TIP60 nanocage is retained even after application onto paper, and that temperature changes induce partial dissociation and re-association of TIP60. Therefore, NR-loaded TIP60 demonstrates potential as a smart bio-ink capable of responding to temperature changes.

Keywords : Protein nanocage; TIP60; Cryo-EM; Nile Red; Solvatochromism

溶媒環境に応答して色が変化するソルバトクロミズムを示す、疎水性色素のナイルレッド(NR)をタンパク質ナノケージ TIP60 に内包させた。内包効率を向上させるため、TIP60 の内部表面をピレニル基で修飾したところ、内包量は増加し、水中での分散も実現した。クライオ電子顕微鏡を用いた解析の結果、ピレニル基が相互作用して NR の結合サイトを形成していることが示された。溶液は青に発色し、TIP60 の内部空間が高極性であることを示した。これをインクとして紙に塗布したところ、そのまま青に発色した。対照的に、タンパク質変性剤を塗布した紙上では赤に変色したことから、紙上でナノケージ構造が維持されていることが示唆された。さらに、紙を加熱・冷却したところ、溶液の色は可逆的に変化した。これは、加熱によるナノケージの崩壊/再構築に応答している可能性があり、“smart” なバイオインクとしての利用可能性を示している。



中空金属錯体の孤立空間への閉じ込めによる安定二量体タンパク質のモノマー単離

(東大院工¹・京大複合研²・分子研³・東大国際高等研⁴) ○海老原 梨沙¹・中間 貴寛¹・守島 健²・杉山 正明²・藤田 誠^{1,3,4}

Isolation of monomers from stable dimeric proteins by confinement in coordination cages (¹Grad. School of Engineering, The Univ. of Tokyo, ²Inst. for integrated Radiation and Nuclear Science, Kyoto Univ., ³Inst. for Molecular Science, ⁴UTIAS, The Univ. of Tokyo) ○Risa Ebihara,¹ Takahiro Nakama,¹ Ken Morishima,² Masaaki Sugiyama,² Makoto Fujita^{1,3,4}

Since most proteins form a stable homo-oligomeric structure, it is challenging to analyze the functions and structures of their monomeric state without mutations. In this work, we have isolated monomers of oligomeric proteins by confining them in spherical coordination cages (Fig.1)⁽¹⁻³⁾. M₁₂L₂₄ spherical cages, self-assembled from bis(pyridine) ligands (L) and Pd(II) ions (M), form a well-defined inner cavity that can selectively accommodate a single protein of appropriate size⁽¹⁾. A stable dimeric protein, superoxide dismutase 1 (SOD1, largest diameter: 7 nm, K_d = 10⁻⁸ M) was encapsulated in the cage with a cavity smaller than the protein dimer (inner diameter: 5 nm). Chemical crosslinking assay using bis(*N*-hydroxysuccinimide (NHS)) and analytical ultracentrifugation (AUC) confirmed that the SOD1 monomer was selectively encapsulated. As a result, the enzymatic activity and secondary structure of the native SOD1 monomer were evaluated for the first time.

Keywords : Protein encapsulation, Metallo-cage, Self-assembly, Oligomeric proteins, Well-defined cavity

天然タンパク質の多くは安定な多量体構造を形成する。多量体を構成するタンパク質のモノマーでの性質・構造に興味をもたれるが、変異を加えずに単離し、モノマー本来の性質を調べることは困難である。本研究では、かご型金属錯体の孤立空間を用い、安定二量体タンパク質のモノマー単離を報告する(Fig. 1)。有機二座配位子(L)とPd(II)イオン(M)の自己集合からなる M₁₂L₂₄ 中空かご型錯体⁽¹⁻³⁾は、配位子の設計に基づき一義的な内部空間を構築する。そのため、その大きさに即するタンパク質一分子を選択的に包接することができる⁽¹⁾。かご型錯体(内径 5 nm)よりも大きな安定二量体タンパク質であるスーパーオキシドディスムターゼ 1 (SOD1, 最大直径 7 nm, K_d=10⁻⁸ M)のモノマー包接を試みた。その結果、分析超遠心(AUC)測定やビス NHS エステルを用いた架橋実験から、SOD1 モノマーが錯体に包接されたことがわかった。これにより、天然の SOD1 モノマーの酵素活性や二次構造を評価することができた。

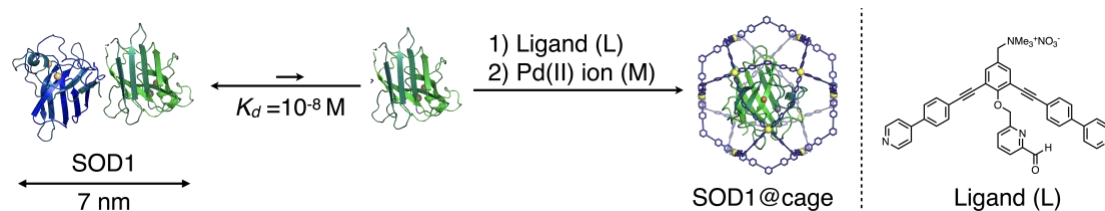


Fig. 1 Encapsulation of SOD1 monomer in a spherical coordination cage

1) R. Ebihara, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* Accepted, e202419476. 2) T. Nakama, R. Ebihara, *et al.*, *Chem. Sci.* **2023**, 14, 2910. 3) D. Fujita, *et al.*, *Chem* **2021**, 7, 2672.

球状金属錯体への捕捉によるタンパク質—脂質複合体の過渡構造の解析

(東大院工¹・名市大院薬²・東大 UTIAS³・分子研⁴) ○中間 貴寛¹・田所 美璃¹・Liu Hongkun¹・矢木 真穂^{2,4}・加藤 晃一^{2,4}・藤田 誠^{1,3,4}

Entrapment of Weak Protein–Lipid Complex within Spherical Coordination Cages to Analyze Its Transient Structure (¹*Graduate School of Engineering, The University of Tokyo*, ²*Graduate School of Pharmaceutical Science, Nagoya City University*, ³*UTIAS, The University of Tokyo*, ⁴*Institute for Molecular Science*) ○Takahiro Nakama,¹ Miri Tadokoro,¹ Hongkun Liu,¹ Maho Yagi-Utsumi,^{2,4} Koichi Kato,^{2,4} Makoto Fujita^{1,3,4}

Weak interactions between proteins and ligands are essential for biological processes. However, structural insights into these transient complexes remain elusive due to the technical limitations in analyzing them at atomic resolution. Here, we report the entrapment of a weak protein–lipid complex within a spherical coordination cage to study its transient structure (Fig. 1). When cutinase-like enzyme (CLE), and its lipid ligand were co-encapsulated in a self-assembled Pd(II) cage^(1,2), their enforced proximity mimicked the densely packed cellular environments, thus enhancing binding at the protein active site. The confinement in a well-defined cavity of the coordination cage enabled nuclear magnetic resonance (NMR) analysis of the protein–lipid complex, revealing interactions at the catalytic site and adjacent loops that are undetectable by standard NMR in bulk solutions.

Keywords : Protein; NMR; Coordination Cage; Host–Guest; Structure Analysis

タンパク質とリガンドの間の弱い相互作用は生体機構の根幹を担う。しかしながら、こうした弱い相互作用に基づく過渡的な複合体を原子分解能で解析する手法は未発達である。本研究では、球状の金属錯体への捕捉によるタンパク質—脂質複合体の過渡構造の解析を報告する(Fig. 1)。クチナーゼ様酵素(CLE)と弱いリガンドである脂質を自己集合性の球状 Pd(II)錯体^{1,2)}に共包接した。錯体の一義孤立空間内で両者が近接し、細胞内に匹敵するまで実効濃度が上昇することで、CLE の活性部位への脂質の過渡的な会合を観測することができた。バルク溶液中では観測されない CLE 活性部位や隣接するループ領域の脂質との弱い相互作用を NMR により解析した。

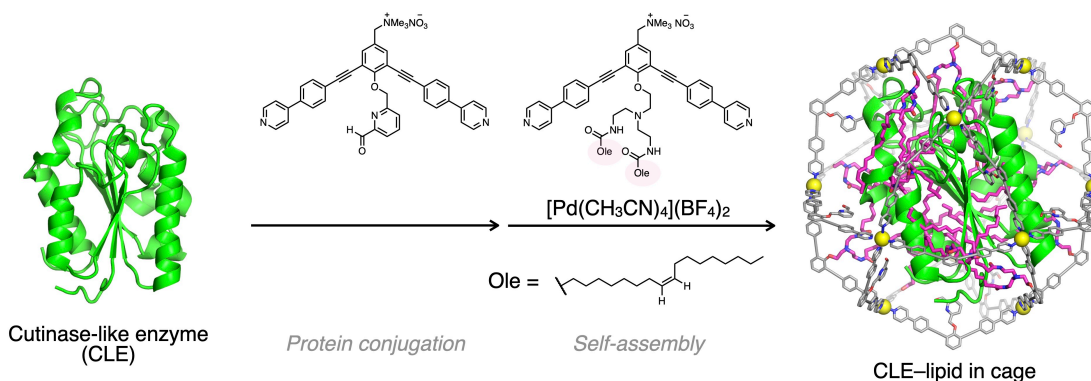


Fig. 1 Encapsulation of a protein–lipid complex in a Pd(II) coordination cage

1) T. Nakama, *et. al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Accepted*, e202419476. 2) D. Fujita, *et. al.*, *Chem* **2021**, 7, 2672.