



2022年12月26日

報道関係者各位

慶應義塾大学
信州大学
高エネルギー加速器研究機構

サッカーボール型タンパク質ナノ粒子 TIP60 を壊して戻す技術開発 —任意のタイミングで解離・会合を制御可能なタンパク質—

慶應義塾大学大学院理工学研究科の大原直也（博士課程2年）、同大学理工学部生命情報学科の川上史専任講師、宮本憲二教授、信州大学繊維学部・バイオメディカル研究所の新井亮一准教授、高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所の安達成彦特任准教授らの共同研究グループは、人工的に設計されたサッカーボール型中空タンパク質ナノ粒子 TIP60 が、60 分子が自発的に集まってできあがる仕組みに着目し、自在に分子をバラバラにしたり、元のサッカーボール形状に戻したりできる構造形成の制御技術を開発しました。これにより、内部の空間に DNA などを内包することができ、将来的な薬物のカプセルとしての利用などが期待されます。

本研究成果は、2022年12月21日に、米国化学会誌 *Journal of the American Chemical Society* のオンライン版に掲載されました。

1. 本研究のポイント

- ・60 分子が集まってできる (60 量体) サッカーボール型タンパク質ナノ粒子 TIP60 をバラバラにしても、元に戻せる仕組みを開発した。
- ・元に戻すには、カルシウムやバリウムなどの金属イオンを添加するだけでよいことを示した。
- ・クライオ電子顕微鏡単粒子解析により、再会合した TIP60 の立体構造解析に成功し、金属イオン結合部位等を明らかにした。
- ・再会合時に同時に添加した DNA が内部空間に閉じ込められることも明らかにした。

2. 研究背景

中空タンパク質ナノ粒子は、薬剤を閉じ込めて輸送するカプセルとしての利用が期待されています。このような構造は一般的に複数のタンパク質が集まってできる構造であり、内部に別の分子を閉じ込めるには、一度バラバラにして元に戻す操作が利用されています。しかし、通常この操作ではパーツとなるタンパク質の構造も壊れてしまうケースが多く、きちんと元のカプセルに戻らず、収率が低下してしまうなどの問題がありました。

そこで本研究ではサッカーボール型タンパク質ナノ粒子 TIP60 (図1)を用いて、温和な環境でバラバラにして元に戻せる仕組みの開

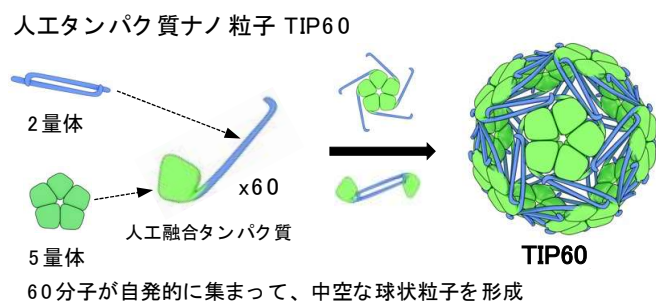


図1 TIP60 の設計と形成過程の概要
(参考文献1より改変して引用)

発に着手しました。本研究で用いた TIP60 は 2018 年に構造設計と構築された直径約 22 ナノメートルの分子で(参考文献 1)、2021 年にはクライオ電子顕微鏡単粒子解析にも成功しています(参考文献 2)。

3. 研究内容・成果

TIP60 の立体構造に着目し、5 量体間の相互作用を壊せばバラバラになるのではないかと考え、相互作用が起こりにくくなるような変異体タンパク質の設計を行いました。その結果、狙い通りに、バラバラのパーツ(2 量体)に分解することができました。この際、変異を導入した領域付近には、カルシウムやバリウムなどのアルカリ土類金属と親和性が高い酸素原子が複数存在していたことから、バラバラになったタンパク質はカルシウムイオンやバリウムイオンなどを添加すれば再び会合するのではないかと考えました。実際に添加したところ 94%のタンパク質が再びサッカーボール形状に戻ることを明らかにしました。クライオ電子顕微鏡単粒子解析による立体構造解析にも成功し、5 量体の間に金属が結合してつなぎとめている様子を明らかにすることができ、ほぼ設計通りの出来事が起きている結果となりました(図 2)。なお、金属イオンを除去すると、再びバラバラになることもわかりました。さらに、この再会合の仕組みを利用して、金属イオンと同時に DNA を添加すると、TIP60 の内部空間に内包することも明らかにできました。

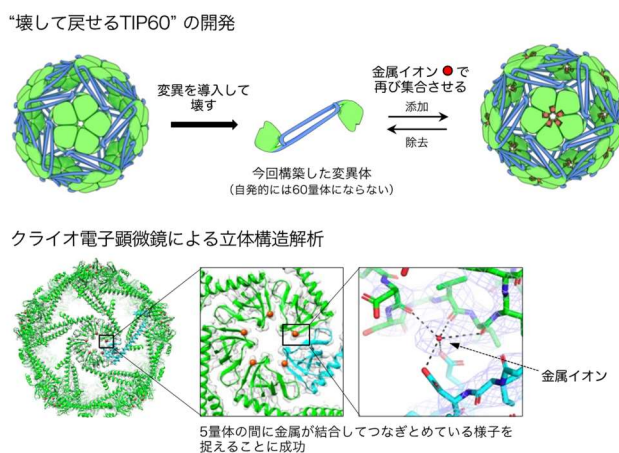


図 2 TIP60 の解離・会合の制御に向けた設計の概略 (上段) と、金属添加により会合した TIP60 の立体構造 (下段)

4. 今後の展開

今後はこれまでに開発した TIP60 の化学修飾法(参考文献 3)と組み合わせ、具体的な有用物質の導入を行うことで、薬剤送達カプセル分子としての応用開発が期待されます。また、可逆的な分子の解離と会合メカニズムを利用した新しい素材の開発などにも用途が広がることが期待されます。

※本研究は、第 8 回新化学技術研究奨励賞、日本学術振興会科学研究費助成事業 (JP18K05324、JP17KK0104、JP19H02522、JP22J13988)、潮田記念基金による慶應義塾大学博士課程学生研究支援プログラム、慶應義塾先端科学技術研究センター (KLL) 後期博士課程研究助成金などの助成や支援を受けて行われました。また、小角 X 線散乱実験は高エネルギー加速器研究機構(KEK)放射光科学研究施設共同利用実験(2020G674)として フォトンファクトリー 小角散乱ビームライン BL-10C にて行われました。本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)の課題番号 JP21am0101071/JP22ama121001 の支援を受け、KEK クライオ電子顕微鏡施設を利用しました(支援番号 1582)。

<参考文献>

1. N. Kawakami, H. Kondo, Y. Matsuzawa, K. Hayasaka, E. Nasu, K. Sasahara, R. Arai, K. Miyamoto, Design of hollow protein nanoparticles with modifiable interior and exterior surfaces. *Angew. Chem. Int. Ed.* 57, 12400–12404 (2018).
2. J. Obata, N. Kawakami, A. Tsutsumi, E. Nasu, K. Miyamoto, M. Kikkawa, R. Arai,

Icosahedral 60-meric porous structure of designed supramolecular protein nanoparticle TIP60. *Chem. Commun.* 57, 10226-10229 (2021).

3. E. Nasu, N. Kawakami, K. Miyamoto, Nanopore-controlled dual-surface modifications on artificial protein nanocages as nanocarriers. *ACS Appl. Nano Mater.* 4, 2434-2439 (2021).

<原論文情報>

タイトル: Reversible assembly of an artificial protein nanocage using alkaline earth metal ions

タイトル和訳: アルカリ土類金属による可逆的な中空人工タンパク質ナノ粒子の会合

著者: 大原直也¹、川上了史¹、新井亮一²、安達成彦³、守屋俊夫³、川崎政人³、宮本憲二¹

¹慶應義塾大学、²信州大学、³高エネルギー加速器研究機構

掲載誌: *Journal of the American Chemical Society*

doi:10.1021/jacs.2c09537

<用語説明>

※1 クライオ電子顕微鏡単粒子解析

クライオ電子顕微鏡は、サンプルを液体窒素温度で凍結し電子線写真を撮影することのできる透過型顕微鏡である。タンパク質の粒子を多数撮影し、データ処理により三次元再構成することで詳細な構造情報を得る解析法が単粒子解析である。

※2 ナノメートル

100 万分の 1 ミリメートル

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、筑波研究学園都市記者会、各社科学部等に送信させていただきます。

・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科

専任講師 川上 了史 (かわかみ のりふみ)

TEL : 045-566-1527 E-mail : norikawakami@bio.keio.ac.jp

信州大学 繊維学部応用生物科学科・バイオメディカル研究所生体分子イノベーション部門

准教授 新井 亮一 (あらい りょういち)

TEL : 0268-21-5881 E-mail : rarai@shinshu-u.ac.jp

・本リリースの配信元

慶應義塾広報室 (望月)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

E-mail : m-pr@adst.keio.ac.jp

Website: <https://www.keio.ac.jp/>

信州大学 繊維学部 総務グループ

TEL : 0268-21-5305 FAX : 0268-21-5318

E-mail : tex_koho@shinshu-u.ac.jp

Website: <https://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/>

高エネルギー加速器研究機構 広報室

TEL : 029-879-6047 FAX : 029-879-6049

E-mail : press@kek.jp

Website: <https://www.kek.jp/>