T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	タンパク質ケージを用いた非共有結合性相互作用ネットワークの設計と動的挙動解明
Title(English)	Design and Dynamic Elucidation of Non-covalent Interaction Networks using Protein Cages
著者(和文)	菱川湧輝
Author(English)	Yuki Hishikawa
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12338号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,丸山 厚,北尾 彰朗,蒲池 利章,吉沢 道人
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12338号, Conferred date:2023/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

論文要約

タンパク質ケージを用いた非共有結合性相互作用ネットワークの設計と動的挙動解明

菱川 湧輝（東京工業大学 生命理工学院 上野研究室）

本博士論文は、タンパク質ケージの内部空間に複数の金属・アミノ酸・分子を精密に集積させることで、クラスターを設計・構築し、その構造および動的性質を解明・制御し、動的挙動を含むクラスター設計概念の確立に挑むものである（Fig. 1）。本論文は、以下の 7 章から構成されている。

第 1 章「緒言」では、原子・分子クラスターの構造と性質、タンパク質ケージを用いた複合体材料の構築に関する先行研究とその課題を解説し、本研究の目的を論じた。これまでの研究において、単独の原子・分子では見られないクラスターの特異な性質が注目されており、合成化学的なアプローチで、クラスターの合成と機能評価が試みられている。しかしながら、クラスター化を可能とする非共有結合性相互作用の物理化学的性質の解明や、クラスターの動的挙動設計、異種分子の複合クラスターの構築は未だに困難であることを指摘し、これらの課題を解決するためのアプローチとして、タンパク質ケージ（フェリチン）の利用可能性について述べている。

第 2 章「タンパク質ケージを用いた芳香族クラスターのコンフォメーション挙動および熱安定性の解明」では、フェリチンの 2 回対称界面に、複数の芳香族残基（フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン）を導入することにより、相互作用パターンの異なる芳香族クラスターを構築し、その動的挙動と熱安定性の関係を評価した。X 線結晶構造解析、熱量測定、および分子シミュレーションにより、サブユニット界面での芳香環相互作用形成、高温における芳香族クラスターの T 型配向から π–π スタッキングへの変換、水和エントロピーの獲得が、タンパク質の熱安定性向上に寄与していることを明らかにした。

第 3 章「芳香族蛍光分子の結合により駆動する分子挙動伝播システムの設計」では、フェリチンの 2 回対称界面に、異なる形状の分子ポケットを有する芳香族クラスターを構築し、適切なリガンドの結合を駆動力として、複数の芳香環側鎖の配向変化を誘起・伝播させる分子システムを提案し、その設計コンセプトを X 線結晶構造解析および分光学的測定によって検証した。リガンド結合部位から離れた位置のアミノ酸側鎖の挙動を制御できることを実証し、分子挙動伝播システムの開発に成功した。また、π–π スタッキングを介して芳香族蛍光分子をポケット内に孤立させることで、量子収率および蛍光寿命といった蛍光分子特性を向上できることを示した。

第 4 章「非対称性ジアリールエテンの設計と芳香族タンパク質ケージ内での光異性化」では、内包できる分子種の拡張と、芳香族クラスターへの光応答性の付与を目指した。光異性化分子であるジアリールエテンに着目し、その分子骨格の一方に親水性官能基、他方に多環式芳香族官能基を配した非対称な構造のジアリールエテンを設計・合成した。非対称性ジア

リールエテンを、タンパク質ケージの内部空間に非共有結合的に固定化させることに成功し、ケージ内で光異性化反応を達成した。

第 5 章「芳香族空洞設計によるフラーレン結合タンパク質ケージの構築」では、タンパク質ケージの内壁に複数のグリシンおよびフェニルアラニンを導入した変異体を設計し、2 回対称界面における空洞の構築、フラーレンカルボン酸誘導体の固定化、X 線結晶構造解析による複合体構造の決定に成功した。これにより、芳香族合成分子と芳香族アミノ酸からなる異種の芳香族ハイブリッドクラスター創製の基盤を確立した。

第 6 章「フェリチンケージの 2 回対称サブユニット界面を利用したシステイン–金クラスターの構築」では、フェリチンの 2 回対称界面に、複数のシステイン残基を導入し、システインクラスターの形成と、多核金集積によるチオール側鎖配向変化を達成した。フェリチンの 2 回対称界面を用いて、多種多様なアミノ酸残基クラスターを構築・解析できることを実証し、本設計手法の一般性を示した。

第 7 章「総括」では、第 1 章から第 6 章で得られた原子・分子クラスターに関する知見を総括し、集密設計の新概念を提唱し、動的超分子システム構築の実現に向けた将来展望を論じた。本論文は、タンパク質ケージを用いて、金属、官能基（芳香環）、および分子のクラスターを構築し、その動的な集積状態を原子レベルで制御できることを示した。本研究成果は、従来のクラスター設計の概念を拡張するだけでなく、天然の生体分子システムに匹敵する、あるいはそれらを凌駕する、動的タンパク質複合超分子システム実現への道を切り拓いている。

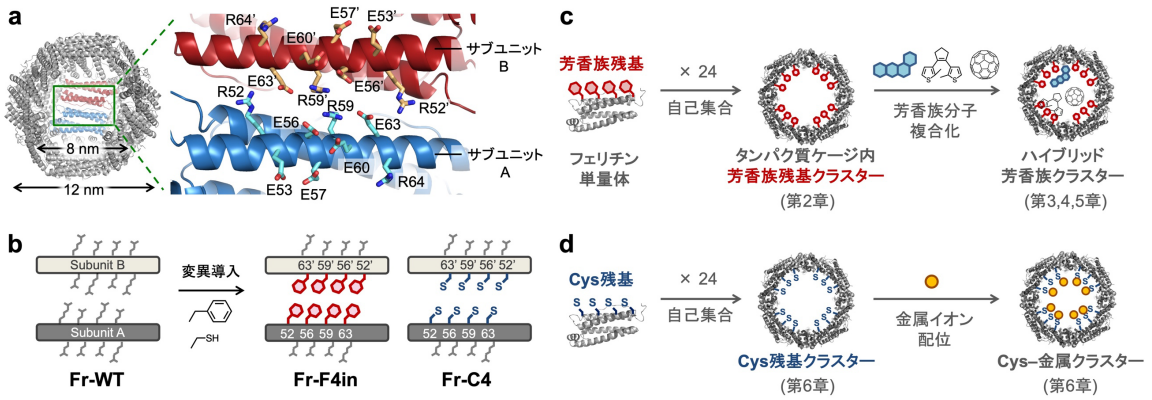

Fig. 1. タンパク質ケージを用いた超分子クラスター設計 a) フェリチンケージおよび 2 回対称界面の構造 (PDB ID: 1DAT)。b) 2 回対称界面への変異導入。c) ハイブリッド芳香族クラスター構築スキーム。d) Cys–金属クラスター構築スキーム。