

細胞内タンパク質結晶の分子界面エンジニアリングによる安定制御

(東工大生命理工¹) ○永間美咲¹・安部聡¹・上野隆史¹

Stabilization of an in-cell protein crystal by engineering the molecular interface (¹Tokyo Institute of Technology) ○Misaki Nagama,¹ Satoshi Abe,¹ Takafumi Ueno¹

Polyhedra Crystal (PhC), which crystallizes in living cells, has attracted attention for developing solid biomaterials for encapsulating foreign proteins and small organic compounds. However, it is still difficult to further improve the crystal stability and control the release of encapsulated molecules by the crystal decomposition. Here, we established a new strategy for stabilizing the crystals by forming multiple disulfide bonds at the molecular interfaces in the crystals. We used Foldit, a structural simulation software², to design the molecular interface for the introduction of cysteine residues. The designed mutants crystallized and showed the same space group as WT. By oxidizing the crystals and forming S-S bonds within the crystals, it was demonstrated that the crystals do not dissolve at high pH, which WT dissolves.

Keywords : protein crystal engineering; Polyhedra; design; cross-linking; Foldit

細胞内で結晶化する多角体タンパク質は、酵素内包による固定触媒や外来分子固定化など機能性固体材料としての応用が進められてきた¹。しかし、安定性の向上や、結晶溶解による内包分子の放出制御などは、未だに困難である。そこで、本研究では、多角体の分子界面にジスルフィド結合を導入することで、WTが溶解する高 pH でも溶解せず、還元条件下で溶解する変異体結晶の合成を試みた。構造シミュレーションソフト、Foldit を用いてエネルギー的に安定なシステイン変異体を設計し²、大腸菌を用いて変異体の結晶を合成した (Figure 1)。小角 X 線散乱測定の結果、WT と同様の空間群を持つことが確認された。この結晶を酸化し、結晶内に S-S 結合を形成させることにより、WT では溶解する高い pH でも溶解しないことが示された。現在、作成した変異体の X 線結晶構造解析を進めている。

1) Tien K. Nguyen and S. Abe, *et al.*, ACS Applied Nano Materials, **2021**, 4 (2), 1672-1681

2) Cooper, S, *et al.*, Nature, **2010**, 466, 756-760

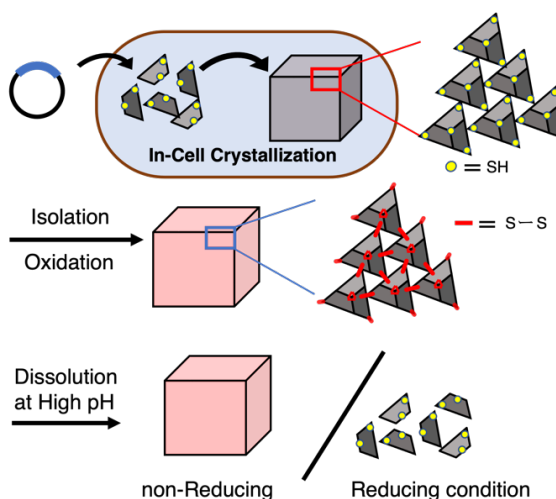


Figure 1. Schematic representation of the construction of stable crystals by introducing S-S bonds.

Figure 1). 小角 X 線散乱測定の結果、WT と同様の空間群を持つことが確認された。この結晶を酸化し、結晶内に S-S 結合を形成させることにより、WT では溶解する高い pH でも溶解しないことが示された。現在、作成した変異体の X 線結晶構造解析を進めている。