

## M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> 巨大球状錯体に包接されたタンパク質の結晶化

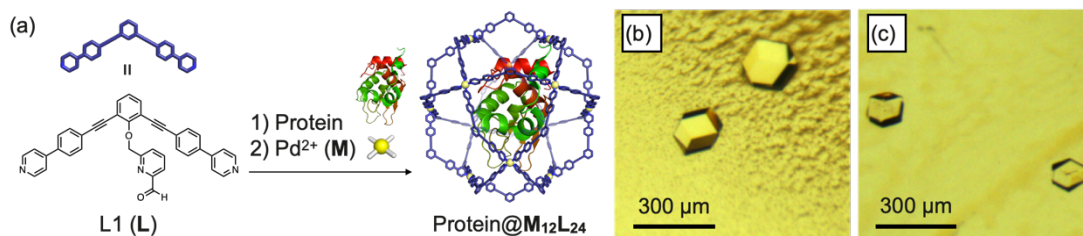
(東大院工<sup>1</sup>・分子科学研究所<sup>2</sup>) ○舟見 進吾<sup>1</sup>・中間 貴寛<sup>1</sup>・藤田 誠<sup>1,2</sup>

Crystallization of proteins encapsulated within an M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> giant spherical complex (<sup>1</sup>*Grad. School of Engineering, The Univ. of Tokyo*, <sup>2</sup>*Institute for Molecular Science*) ○Shingo Funami,<sup>1</sup> Takahiro Nakama,<sup>1</sup> Makoto Fujita<sup>1,2</sup>

We have previously reported protein encapsulation within an M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> giant spherical complex that self-assembles from Pd<sup>2+</sup> ions (M) and bis(pyridine) ligands (L).<sup>1,2</sup> Proteins in an M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> cage exhibited improved stability against organic solvents and high temperature in a discrete state by confinement in the isolated space of cage. In this work, we crystallized proteins encapsulated within an M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> complex to evaluate their properties and structures in their crystalline state. We investigated crystallization conditions of the complex with an empty one, which was applied to lysozyme within an M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> complex from ligand L1<sup>2</sup>) (Fig. 1a). As a result, a vapor diffusion method (DMSO/*t*BuOAc, 20 °C) yielded high-quality single crystals of the encapsulated lysozyme in the same manner as the empty cage (Fig. 1b,c). X-ray diffraction analysis showed that these crystals have the same packing. Crystals of other proteins were also obtained under the same conditions, suggesting sequence-independent protein crystallization where the M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> framework defines protein intermolecular interactions.

**Keywords :** Protein crystallization; Single crystal X-ray diffraction analysis; Protein encapsulation; Spatial confinement; Self-assembly;

我々は以前 Pd<sup>2+</sup>イオン(M)と折線型配位子(L)から構築される M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> 巨大球状錯体へのタンパク質包接を報告した<sup>1,2</sup>。包接されたタンパク質は、溶液中で錯体の孤立空間に捕捉されることで、有機溶媒や温度に対する安定性が向上した。本研究では、M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> 錯体に包接されたタンパク質の結晶化を行い、その結晶中での性質・構造を評価した。タンパク質を含まない空の錯体での結晶化での条件探索をもとに配位子 L1 を用いたリゾチーム包接体(Fig. 1a)<sup>2</sup>の結晶化を検討した。その結果、空の錯体で良質な結晶が得られた蒸気拡散法(Fig. 1b, DMSO/*t*BuOAc, 20 °C)で、リゾチーム包接体でも同形の単結晶が生成した(Fig. 1c)。X線回折測定により、これらの結晶構造が同じパッキングであることが確認された。他のタンパク質でも同一条件で結晶化したことから、外周の錯体が相互作用を規定することで、タンパク質の種類によらない結晶化ができることが示唆された。



**Fig. 1** (a) Protein encapsulation in M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> complex. (b,c) Crystals of M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> (b), lysozyme@M<sub>12</sub>L<sub>24</sub> (c). 1) Fujita, D. *et al. Nat. Commun.* **3**, 1093 (2012). 2) Fujita, D. *et al. Chem* **7**, 2672–2683 (2021).