

2021 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

|        |                                |
|--------|--------------------------------|
| 研究担当者  | 藤田 大士                          |
| 研究機関名  | 京都大学                           |
| 所属部署名  | 高等研究院                          |
| 役職名    | 准教授                            |
| 研究課題名  | 分子スーツ装着による生体分子の機能強化と動態制御       |
| 研究実施期間 | 2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日 |

#### 研究成果の概要

創発的研究初年度においては、申請時の提示していた予備データを、論文として発表することができた（“Protein Stabilization and Refolding in a Gigantic Self-Assembled Cage” Chem 2021, 7, 2672–2683.）。包接するモデルタンパク質として、プラスチック分解酵素の一つであるクチナーゼ様酵素（206 a. a., 21 kDa）を選択し、各種条件下での酵素活性評価を行った。その結果、第一にケージ化酵素も未修飾酵素とまったく同等の活性を有している事が示された。具体的には、ケージ化によるダメージや運動制限などはなく、また基質分子もケージの内外を拡散の制限なく行き来できていることを示している。またケージ化酵素は、例えば水:アセトニトリル=10:90 といった高有機溶媒濃度領域においても凝集、沈殿が生じない。（酵素活性の半減期は、未修飾酵素が約 2 時間であるのに対し、ケージ化酵素は 7 ヶ月に伸びた。）熱や変性剤についても著しい安定化効果がみられた。すなわち、「タンパク質分子に分子スーツ（今回はケージ型分子）を装着する事により、タンパク質分子の挙動を変化させる」という、本研究提案に示す基礎コンセプトを世に示す事ができた。

さらなる成果として、上記論文に用いた金属錯体より、さらに安定性、生体適合性の高い共有結合ケージ分子の設計そして合成も行った。これら共有結合型ケージ分子は、核磁気共鳴分光法、質量分析法、単結晶 X 線回折法により、その合成を確認することができた。当初計画としては、第一年次のみで新ケージ分子の合成は完了、第二年次は合成したケージ分子を用いたタンパク質・ペプチド・核酸の包接研究に移行する予定であった。しかし、この新ケージの設計手法が、当初の想定以上の設計自由度を有している事が次第に明らかになってきた。アドバイザーの先生より「これら設計理論と合成をきちんと整備すると学術的に価値がある」とコメントを頂いたこともあり、第二年次も、このケージ分子の設計理論整備をもう少し継続する計画である。