

Title	中空人工蛋白質ナノ粒子と化学修飾を組み合わせた異分子内包分子カプセルの開発
Sub Title	Chemical modification of hollow artificial protein nano particle for incorporation of small molecules
Author	川上, 了史(Kawakami, Norifumi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究では申請者が自ら設計構築した新規中空タンパク質ナノ粒子TIP60について、内部空間に小分子化合物を閉じ込める手法について検討した。特に課題となっていたのは、TIP60は分子表面が多孔質形状を有しており、小分子化合物の取り込みについては容易に行える一方で、取り込まれた化合物がそのままカプセルから出てしまうという点であった。研究計画当初は、内部に分子が取り込まれたあとに、TIP60分子表面の孔を塞ぐような設計が機能するのではないかと考え、研究を行ってきたが、予備実験段階で化合物の溶解性や孔を塞ぐための化学修飾効率の低さなどの課題が明らかになり、そのままでは化合物の安定的な内包が困難であることがわかった。</p> <p>しかし、一連の研究プロセスにおいて、「化合物の安定的な内包と任意のタイミングでの放出」が実現できる系を構築することに気がついた。申請者が着目したのは、酸化と還元によって化学結合の形成と解離が可能なジスルフィド結合である。TIP60はカプセル内側の表面にチオール基を有するシステインを提示することが可能である。そこで、システインを導入した変異型TIP60にジスルフィド結合を有する小分子化合物を添加すれば、チオールとジスルフィドの間で交換反応が生じ、TIP60とその小分子化合物の一部の構造をTIP60内部に化学的に固定した形で内包できる可能性を検討した。実際に、モデル化合物であるDTNBという化合物を添加したところ、TIP60とDTNBの間で狙った通りの反応が生じ、小分子を直接内包することに成功した。さらに、この化学結合は、還元状態に置くことで可逆的に切断できることから、取り込まれた分子がTIP60の外部に放出されるのではないかと考え、還元したところ、実際に内包された化合物が放出されることも明らかにすることができた。したがって、当初の手順とは異なったものの、安定した小分子内包の分子機構の構築に成功した。</p> <p>In this study, we have attempted to use newly developed hollow protein nanoparticle, TIP60, as a nano-capsule by incorporating small molecules in interior space. The TIP60 has a number of pores with at least 3 nm diameter at the molecular surface. Thus, the small molecules added to outside of TIP60 can penetrate in inner space. However, the molecules once penetrated in the inner space are easily released to exterior of TIP60 because of the large pores. To fix small molecules in the inner space, we initially performed chemical modification experiments to close the pore after introduction of pigment molecules. The data, however, showed that the modification rate is not sufficiently high to enclose the pigment molecules.</p> <p>We next tried to fix the small molecules at the interior surface of TIP60 through the disulfide bond formation. The serine residues located at the interior surface of TIP60 was mutated to cysteine residue and reacted with the small molecule containing disulfide bond. We used DTNB as a modification molecule. As a result, cysteine thiol groups are modified by TNB through the thiol-disulfide bond exchanging reaction. The modified TNB can be released by the addition of reducing reagents. These data suggests that TIP60 can be used as redox responsive molecular nanocapsule.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180205

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	理工学部	職名	専任講師(有期)	補助額	1,000 (特A)千円
	氏名	川上 了史	氏名 (英語)	Norifumi Kawakami		
研究課題 (日本語)						
中空人工蛋白質ナノ粒子と化学修飾を組み合わせた異分子内包分子カプセルの開発						
研究課題 (英訳)						
Chemical modification of hollow artificial protein nano particle for incorporation of small molecules						
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究では申請者が自ら設計構築した新規中空タンパク質ナノ粒子 TIP60 について、内部空間に小分子化合物を閉じ込める手法について検討した。特に課題となっていたのは、TIP60 は分子表面が多孔質形状を有しており、小分子化合物の取り込みについては容易に行える一方で、取り込まれた化合物がそのままカプセルから出てしまうという点であった。研究計画当初は、内部に分子が取り込まれたあとに、TIP60 分子表面の孔を塞ぐような設計が機能するのではないかと考え、研究を行ってきたが、予備実験段階で化合物の溶解性や孔を塞ぐための化学修飾効率の低さなどの課題が明らかになり、そのままでは化合物の安定的な内包が困難であることがわかった。</p> <p>しかし、一連の研究プロセスにおいて、「化合物の安定的な内包と任意のタイミングでの放出」が実現できる系を構築できることに気がついた。申請者が着目したのは、酸化と還元によって化学結合の形成と解離が可能なジスルフィド結合である。TIP60 はカプセル内側の表面にチオール基を有するシステインを提示することが可能である。そこで、システインを導入した変異型 TIP60 にジスルフィド結合を有する小分子化合物を添加すれば、チオールとジスルフィドの間で交換反応が生じ、TIP60 とその小分子化合物の一部の構造を TIP60 内部に化学的に固定した形で内包できる可能性を検討した。実際に、モデル化合物である DTNB という化合物を添加したところ、TIP60 と DTNB の間で狙った通りの反応が生じ、小分子を直接内包することに成功した。さらに、この化学結合は、還元状態に置くことで可逆的に切断できることから、取り込まれた分子が TIP60 の外部に放出されるのではないかと考え、還元したところ、実際に内包された化合物が放出されることも明らかにすることができた。したがって、当初の手順とは異なったものの、安定した小分子内包の分子機構の構築に成功した。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>In this study, we have attempted to use newly developed hollow protein nanoparticle, TIP60, as a nano-capsule by incorporating small molecules in interior space. The TIP60 has a number of pores with at least 3 nm diameter at the molecular surface. Thus, the small molecules added to outside of TIP60 can penetrate in inner space. However, the molecules once penetrated in the inner space are easily released to exterior of TIP60 because of the large pores. To fix small molecules in the inner space, we initially performed chemical modification experiments to close the pore after introduction of pigment molecules. The data, however, showed that the modification rate is not sufficiently high to enclose the pigment molecules.</p> <p>We next tried to fix the small molecules at the interior surface of TIP60 through the disulfide bond formation. The serine residues located at the interior surface of TIP60 was mutated to cysteine residue and reacted with the small molecule containing disulfide bond. We used DTNB as a modification molecule. As a result, cysteine thiol groups are modified by TNB through the thiol-disulfide bond exchanging reaction. The modified TNB can be released by the addition of reducing reagents. These data suggests that TIP60 can be used as redox responsive molecular nanocapsule.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
川上 了史		Angewandte Chemie International Edition	2018年7月31日			