



ペプチド結晶の X 線回折測定実験

結城 諒介¹、藤澤 郁英¹

¹ 豊橋技術科学大学 環境・生命工学系

1. 背景と研究目的

10 残基程度のペプチド鎖はタンパク質の一部や分解物としてだけではなく、そのものがホルモンなどの機能を持つ場合や、抗生物質の原材料になる場合がある。また、有機合成分野では近年注目されている有機分子不斉触媒としての L-プロリンを末端に持つペプチドなども研究されている。しかしながら、アミノ酸やジペプチドなどは多くの分子構造が X 線結晶構造解析により決定されている一方で、10 残基程度の未修飾のペプチド鎖の X 線結晶構造解析例は数例しかない。これは、この程度の長さのペプチド鎖は溶液中で一定の構造を取りにくいと考えられている。本研究では比較的一定の構造を取ると推測する 10 残基程度のペプチド鎖を設計し、その推測が正しいかどうかを X 線結晶構造解析による構造決定により検証することを目的とする。この過程で得られるペプチド鎖の結晶構造はペプチド設計の研究に大きな役割を果たすものと考えられる。

2. 実験内容

溶液中でも一定の構造を取ると推測した 3 種類のペプチド鎖を有機合成し、結晶化条件の検索を行った。それぞれのペプチド鎖でそれぞれの条件で結晶が得られたが、結晶サイズが大きくなり、実験室系の X 線装置では回折像が得られなかった。このままでは、得られた結晶の結晶性が悪いために回折点が観測できないのか、使用している X 線の強度が弱いために回折点が観測できないか判断が難しかったため、貴センターのビームライン BL2S1 を利用し、単結晶 X 線回折実験を行った。クライオ条件で回折実験を行い、抗凍結剤にはグリセロール等を使用した。X 線の波長は 0.75 Å で検出器は Q315r (CCD) を利用した。結晶はループによりマウントした。

3. 結果および考察

結晶に X 線を照射し、最も良い場合ではいくつかの回折点が得られたが、晶系や格子定数を決定するには至らなかった。これはもともと結晶性が悪かった可能性が高いが、結晶が小さいため、結晶操作中や凍結中に結晶にダメージを与えてしまった可能性もあるため、今後も継続して回折実験を行う予定である。また、結晶性の改良は外観からは判断しづらいため、いくつかの結晶化条件で出た結晶を用いて順次 X 線回折実験を行い、構造解析を行える回折点が得られる結晶を探索する予定である。

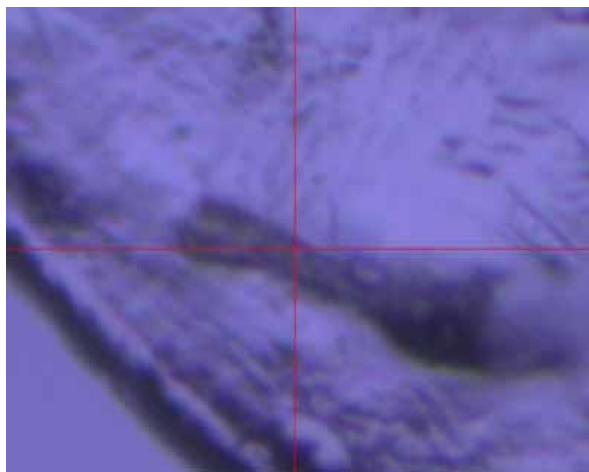


図 1 X 線回折実験に使用した結晶
ループですくい、凍結させ、回折装置に取り付けてセンタリングした後に撮影した。