



膜タンパク質結晶の回折実験

入江克雅^{1,2}、香西大輔¹、中村駿²

1 名古屋大学 細胞生理学研究センター 2 名古屋大学大学院 創薬科学研究科

1. 背景と研究目的

膜タンパク質の結晶は界面活性剤などを多く含む溶媒領域が広がる傾向があるため、得られる結晶は小さく回折強度が弱い場合が多い。そのため、回折データの収集のためにはビーム径が細く高輝度の X 線源が必要になる。高輝度の X 線源としては国内では SPring-8 やフォトンファクトリーなどがあるが、これらのみで結晶の品質改善と回折データ収集のために十分なビームタイムを確保することは困難である。あいちシンクロトロン光センターの放射光は利便性が高く、これを用いて結晶の品質評価が可能であれば、結晶化条件の最適化を迅速に行うことができる。そこで、BL2S1 を用いた膜タンパク質結晶の回折実験を行い、結晶の品質評価が可能かを検討した。

2. 実験内容

3 種類の膜タンパク質の結晶を準備し回折実験を行った。ビームサイズ 100 μm のビームを用いて実験を行った。タンパク質 A、B 及び C については、SPring-8 での回折実験でそれぞれ 1.5 \AA 、3 \AA 及び 6 \AA 分解能程度のスポットが得られている。これらのタンパク質について 0.05 mm \times 0.05 mm \times 0.05 mm 程度 (図 1 左) と 0.1 mm \times 0.1 mm \times 0.05 mm の大きさの結晶 (図 1 右) をそれぞれ用意した。回折像を確認しながら露光時間を 30, 60, 180, 300 秒をそれぞれ検討した。

3. 結果および考察

タンパク質 A については、結晶の大きさに関わらずいずれの露光時間でも 2 \AA 程度の回折点を得られ、1.5 \AA 程度の回折点を得るためには 180 秒の露光時間が必要であった。タンパク質 B については、大きな結晶について露光時間を 180 秒にした時に 4 \AA 程度の回折点を得られた。小さい結晶については 300 秒露光の時に 4 \AA 程度の回折点を得られた。タンパク質 C については、大きい結晶については 180 秒露光で 6 \AA 程度の回折点を得られたが、小さい結晶では 300 秒露光でも回折点は得られなかった。

以上の結果から、ビーム径と同程度の大きさの結晶であれば露光時間を 180 秒で測定することで十分な品質評価が可能であることがわかった。一方で、高分解能の回折データ収集には長時間の露光が必要となり適さないが、変異導入による構造変化などを評価するには十分な回折データの収集が可能であると思われる。

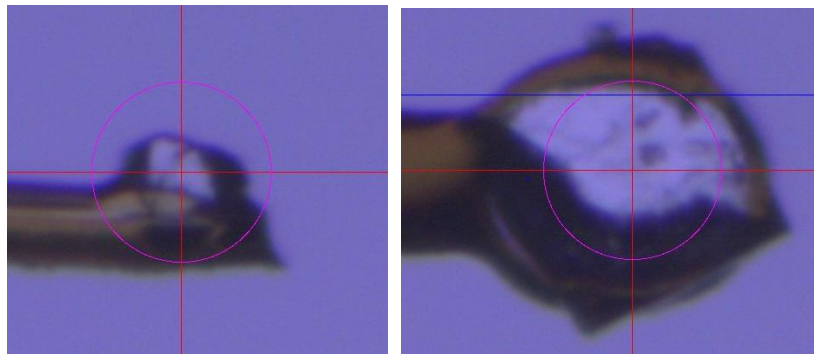


図 1 : 回折実験に用いた結晶