



AichiSR

膜タンパク質結晶の回折実験

入江克雅^{1,2}、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

原核生物由来ナトリウムチャンネルのイオン選択性機構の分子基盤の解明のためには、様々な陽イオンを含む溶液条件下での選択性フィルター中の電子密度を X 線結晶構造解析により観察し、選択性フィルターの陽イオン認識機構を理解する必要がある。そのため、作製した結晶について様々なイオンを含む条件下での回折実験を行い、十分な分解能の回折像データを収集しなければならない。そこでまず、分解能を損なわず結晶外液を置換する方法の検討を行った。置換条件の評価は作製した結晶の分解能で判断するため、それぞれの条件で凍結した結晶の品質を放射光を用いた回折実験にて確認した。

2. 実験内容

これまでの実験で Na⁺及び Mg²⁺イオンを含む条件で良質な結晶が得られており、3.2 Å 分解能の回折データを収集している。そこで、この結晶化条件から一価イオンをそれぞれ Li⁺、K⁺イオン及び二価イオンをそれぞれ Be²⁺、Ca²⁺、Sr²⁺イオンに置換した条件で結晶化を試みたところ、十分な大きさの結晶が得られなかった。そこで、Na⁺及び Mg²⁺イオンを含む条件で作製した結晶をそれぞれのイオンを含む溶液へ置換する条件の検討を行った。各イオンの組み合わせについて置換の順序、浸漬時間、最終濃度を検討した。露光時間は 180 秒、振動角は 1° にて回折実験を行った。

3. 結果および考察

各条件において調整した結晶は回折像が全く得られないもの・分解能が 8 Å 程度のもの・分解能が 3 Å 台のものに大別された。これらの結晶を SPring-8 のビームライン BL41XU にて回折実験を行ったところ、それぞれ回折像なし・6 Å 分解能・3 Å 程度の回折点を得られた。以上のことから、BL2S1 での回折実験にて結晶の凍結条件の評価が可能である。これにより Be²⁺、Ca²⁺のイオンを含む条件での結晶の凍結条件を決定し、それぞれ 3 Å 程度の回折強度データを BL41XU にて収集した。

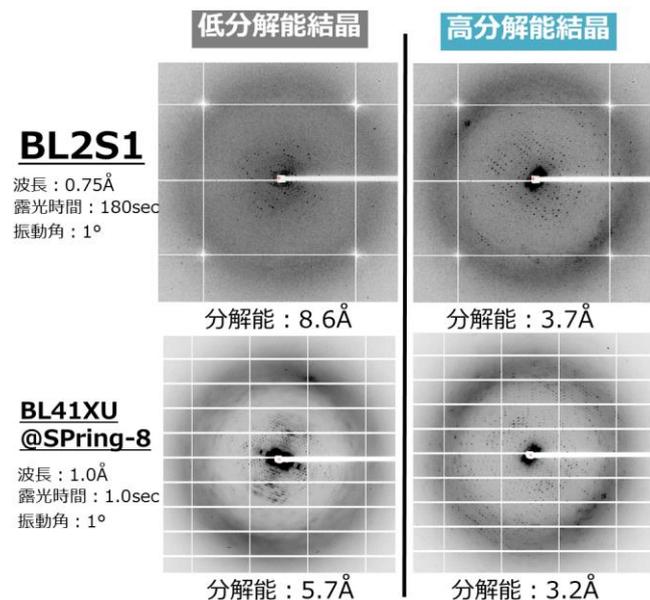


図 1 : BL2S1 と BL41XU (SPring-8) の回折像データの比較