



## 加圧による結晶性向上と高エネルギー構造の補足

永江峰幸

名古屋大学シンクロトロン光研究センター

### 1. 背景と研究目的

X線結晶構造解析法によって決定された蛋白質の立体構造は、薬剤の設計等に利用されている。一方で対象としている蛋白質の結晶化に成功したもののそれらが低分解能の回折能しか示さず詳細な構造情報が得られないという事態にしばしば直面する。蛋白質結晶の結晶性を改善し高分解能の回折データを得る手法としては、我々はこれまでに、蛋白質結晶に圧力をかけることで分解能が向上することを見出している。そこで分解能向上のツールとして圧力に着目し、その適用範囲を調べている。テストサンプルとして、これまでにウシ肝臓由来カタラーゼと HIV-1 由来 RNaseH の結晶を作成し、BL2S1 で室温常圧下で回折実験を行い、高压実験に使用出来る結晶であることを確認した。本申請課題ではこれらの結晶について、常圧下～高圧力下で回折データを収集し解析を行った。

### 2. 実験内容

RNaseH 結晶を圧力媒体に浸し、ダイヤモンドアンビルセル (DAC) の試料室に封入した。先ず常圧下で結晶に X 線を照射し、回折データを収集した。次に結晶に圧力をかけて結晶の同一箇所に X 線を照射して回折データを収集した。結晶毎の個体差によって分解能の差が出てしまうことを避けるために、このように同一結晶の同一箇所に X 線を照射し回折データを収集している。RNaseH 結晶については 290, 530, 750 MPa の 3 つの高圧力条件下で回折データ収集・比較を行った。またカタラーゼ結晶についても同様の方法で測定し、380 MPa 下で回折データを収集した。

### 3. 結果および考察

RNaseH 結晶の常圧下と各圧力下の  $I/\sigma(I)$  を Fig. 1 に示す。290 MPa 下では回折データの統計値に有意な差は見られない。530 MPa 下では回折データの統計値が改善しており、 $I/\sigma(I)=2$  を基準にした場合、常圧下での分解能は 2.8 Å で 530 MPa 下での分解能は 2.5 Å である。750 MPa 下では、高角側の領域では  $I/\sigma(I)$  が改善しているが、低角側の領域では逆に低下している。カタラーゼ結晶については、常圧下の分解能は 3.8 Å であるが、380 MPa 下での分解能は 4.5 Å である (Fig. 2)。今後他の蛋白質結晶についても、圧力と分解能の関係を調べていく。

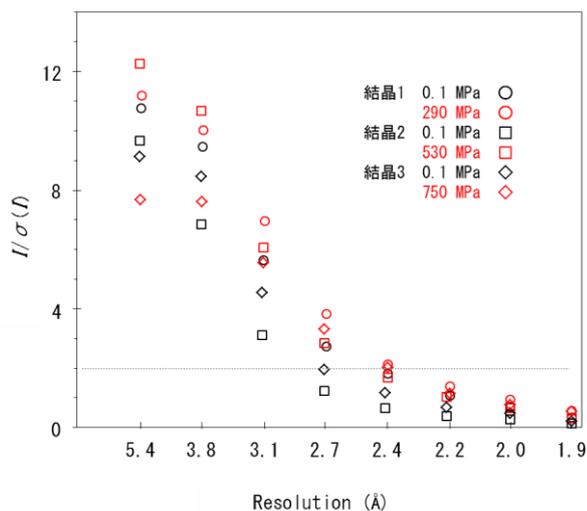


Fig.1 RNaseH 結晶の  $I/\sigma(I)$

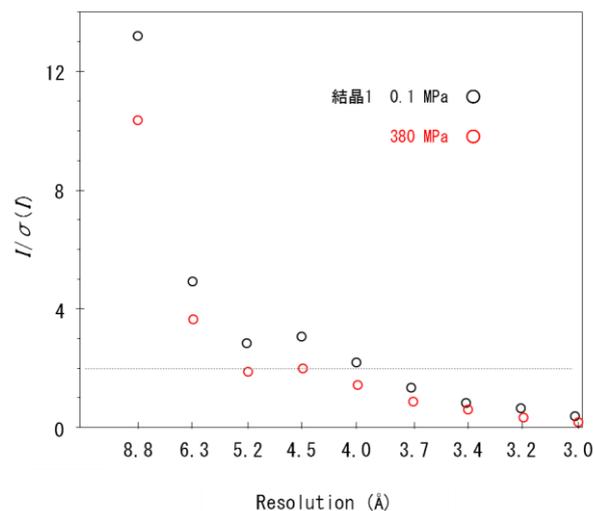


Fig.2 カタラーゼ結晶の  $I/\sigma(I)$