



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線結晶構造解析法は現在もっとも頻繁に利用される蛋白質構造決定法である。X線結晶構造解析法には、良質の蛋白質結晶を用いれば非常に精度の高い構造情報が得られるという利点があり、またそれらの構造情報は薬剤設計等にも利用されている。一方で研究対象としている蛋白質の結晶化に成功しても、得られた結晶が低分解能の回折能しか示さないという事態にしばしば直面する。従って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の開発が望まれる。これまでに我々は、蛋白質結晶に圧力をかけることで回折データが顕著に改善し、分解能が向上することを見出している。そこで本研究課題では、分解能向上のツールとして圧力に着目する。そして、加圧によって全ての蛋白質結晶の分解能が向上するのか、そうでないならば、どういった蛋白質結晶ならば分解能が向上するのかその適用範囲を調べる。

2. 実験内容

圧力と分解能の関係性を調べるためのテストサンプルとして、ヒトユビキチンの Cubic 結晶を作成した。25 mg/mL ヒトユビキチン、10 mM Tris-HCl (pH7.5) の組成の蛋白質溶液と、100 mM Bis-Tris (pH6.4), 200 mM (CH₃COO)₂Zn, 20% PEG3350 の組成の結晶化母液を用いてハンギングドロップ蒸気拡散法によって結晶化を行った。得られた結晶を 100 mM Bis-Tris (pH6.4), 35% PEG3350 の組成のバッファに移した後、ダイヤモンドアンビルセル (DAC) の試料室内に移した。先ず常圧下で結晶に X 線を照射し回折データを収集し、その後結晶に圧力をかけて X 線を照射して回折データを収集した。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することで、結晶毎の個体差による分解能の差が出ないようにした。常圧から最大 370 MPa の複数の圧力条件下で回折データ収集・比較を行った。

3. 結果および考察

ヒトユビキチンの Cubic 結晶の常圧下と 370 MPa 下の $I/\sigma(I)$ を Fig. 1 に示す。高角側の $I/\sigma(I)$ は加圧後に若干低下しているが、一方で高角側の $I/\sigma(I)$ は顕著に上昇していることが分かる。例えば $I/\sigma(I)=2$ となる分解能は、常圧下では 3.0 Å であるが、370 MPa 下では 2.4 Å になっており、分解能が向上していることが分かる。今後、常圧下と高圧下における結晶構造を解析し、このように加圧で分解能が向上するメカニズムを調べる予定である

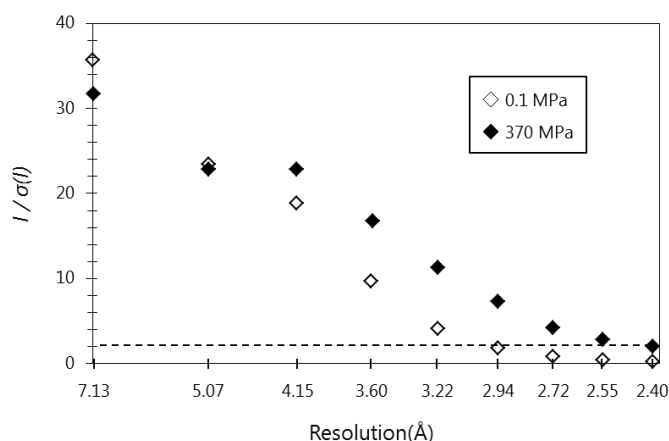


Fig.1 常圧下と 370 MPa 下の回折データの $I/\sigma(I)$ の比較。破線は $I/\sigma(I)=2$ を表す。