



加圧による結晶性向上と高エネルギー構造の捕捉

永江峰幸

名古屋大学シンクロトロン光研究センター

キーワード：タンパク質結晶構造解析，圧力，結晶性

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を調べるためのテストサンプルとして、HIV-1 RNase H の斜方晶結晶を作成した。20 mg/mL RNase H の蛋白質溶液と、100 mM Tris-HCl (pH8.0), 17% PEG1500 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 Tris-HCl (pH8.0), 25% PEG1500 の組成のバッファに移した後、結晶をキャピラリーにマウントし常圧条件下の回折データを収集した。また高圧条件下の回折データ収集については、結晶をダイヤモンドアンビルセル (DAC) にマウントし実施した。

3. 結果および考察

常圧・510 MPa・710 MPa 条件下の構造を Fig.1 に示す。圧力の増加に伴い観測される水和水が増加していることが分かる。Coot を用いて水分子を自動帰属した場合、常圧構造では 80 個、510 MPa 構造では 112 個、710 MPa 構造では 155 個の水分子が帰属された。蛋白質を加圧すると部分モル体積が小さい状態へとシフトするため、水分子が秩序化し、水和水サイトの占有率が上がっているためと考えられる。またホモ二量体を構成する A 鎖・B 鎖ともに、圧力の増加に従い蛋白質分子・水和水の温度因子が低下することも明らかとなった。常圧・510 MPa・710 MPa 下で、蛋白質分子全体の温度因子は、35.8, 32.9, 28.6 Å²、水和水の温度因子は 43.6, 39.8, 36.2 Å²である。

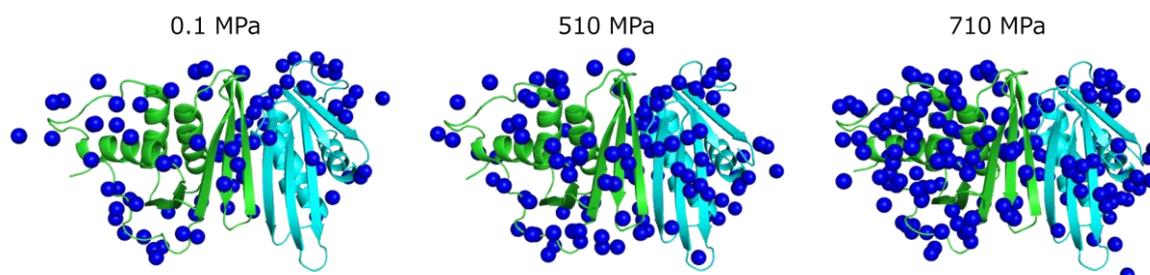


Fig.1 常圧構造と高圧構造の比較

蛋白質分子はリボン表示 (A 鎖、緑 ; B 鎖、シアン) で、水分子は青色の球で表示してある。