



ハイドロゲルによるタンパク質結晶保護

友池 史明¹、森田 惇¹、永江 峰幸²、岡田 哲二¹

¹ 学習院大学 理学部生命科学科、² 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、ハイドロゲル、結晶保護

1. 背景と研究目的

タンパク質結晶は無機塩の結晶と異なり、物理的損傷に弱く、ハンドリングには熟練した操作が必要となる。そこで、ハイドロゲルで保護する手法が提唱されている。しかし、従来の方法ではハイドロゲル中で結晶化するものであり、ハイドロゲル中で結晶化可能なタンパク質に限定されていた^{1, 2)}。そこで我々は結晶を形成後にハイドロゲルに包埋することでタンパク質を物理的損傷から保護する手法を開発した³⁾。本手法ではカウンターディフュージョン法によりキャピラリー中で形成したタンパク質結晶をアルギン酸溶液で塩化カルシウム溶液に押し出すことで、タンパク質結晶をアルギン酸ハイドロゲルで保護する。このハイドロゲル中の結晶でも構造解析が可能であることを確認するため、ハイドロゲル中の結晶由来の回折点を取得し、構造を決定することを本研究では目的としている。

2. 実験内容

リゾチーム結晶をアルギン酸のハイドロゲルに包埋した。これを、グリセロールを含む沈殿剤溶液に浸した後、あいちシンクロトロン BL2S1 において 95 K 下で測定した。

3. 結果および考察

30%グリセロールを含む沈殿剤溶液にハイドロゲルに包埋されたリゾチーム結晶を五分以上浸した後、X 線を照射したところ、およそ 1.3 Å の分解能の回折点が得られた。また、得られた回折点から分子置換法によって構造解析を行い、R 値および R free 値がそれぞれ 0.17、0.19 の構造を決定した。決定された構造は Fig. 1 に示した通り、ゲルで保護なしで決定された構造と同様であり、アルギン酸による影響は見られなかった。本構造については Protein Data Bank への登録にむけて、さらなる精密化を現在進めている。以上のことから我々が開発した手法によってハイドロゲル中に保護した結晶は、結晶構造解析に利用可能であることが明らかになった。これは本手法がタンパク質結晶保護の手法として有用であることを示唆している。

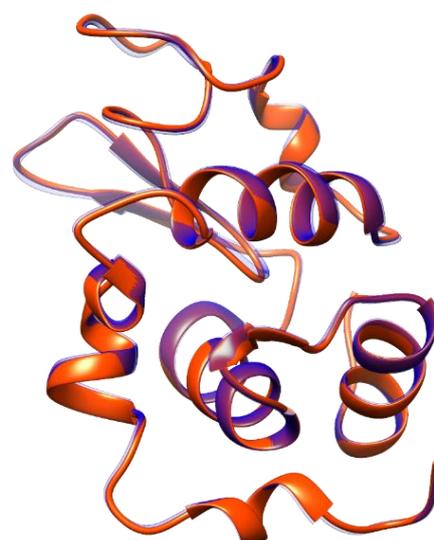


Fig. 1 決定したリゾチームの構造

ゲルで保護した結晶から決定した構造 (赤) と分子置換で用いた構造 (青) の比較

4. 参考文献

[1] S. Sugiyama, K. Tanabe, M. Hirose, T. Kitatani, H. Hasenaka, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori, T. Inoue, H. Matsumura, Protein Crystallization in Agarose Gel with High Strength: Developing an Automated System for Protein Crystallographic Processes, Japanese Journal of Applied Physics, 48 (2009) 075502.

[2] R. Willaert, I. Zegers, L. Wyns, M. Sleutel, Protein crystallization in hydrogel beads, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 61 (2005) 1280-1288.

[3] 特願 2019-217652