



新規治療薬開発を目指した タンパク質-阻害剤複合体の X 線結晶構造解析

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 : SARS-CoV, 3CL プロテアーゼ, 創薬

1. 背景と研究目的

疾病に関わるタンパク質の立体構造情報を得ることは、薬剤設計を行なう上で非常に有効である。現在、タンパク質の立体構造を決定する実験方法は、X 線結晶構造解析法、核磁気共鳴分光法、クライオ電子顕微鏡、X 線小角散乱法、など様々確立されている。それらの中で X 線結晶構造解析法は、最も簡便な手法で、加えて精密な構造情報を得ることが可能な手法である。SARS-CoV の 3CL プロテアーゼは、ウイルスタンパク質のプロセッシングを行なうことで、ウイルスの増殖に必要不可欠な役割を担っている。このため、抗 SARS 薬の分子標的として期待されている。本実験では、3CL プロテアーゼの結晶構造解析を行ない、抗ウイルス薬の開発を目的とする

2. 実験内容

3CL プロテアーゼ結晶を、20°C の条件下でハンギングドロップ蒸気拡散法を用いて結晶化を試み、2 つの条件でアポ体結晶を得た（結晶化条件 A, B とする）。各条件の結晶を、抗凍結溶液に移した後、フラッシュクーリングによって凍結し、約 100 K の低温条件下で波長 1.12 Å の X 線を用いて回折データを収集した。

3. 結果および考察

結晶化条件 A については、結晶性が悪く 5 Å 分解能程度までしか回折を示さなかった (Fig. 1)。一方、結晶化条件 B については、2.5~2.7 Å 分解能程度まで回折スポットが観測できたため (Fig. 2)、構造解析用に検出器距離 240 mm、露光時間 10 秒、振動角 1 度で 140 枚の回折像を測定した。データ処理の結果、晶系は単斜晶、格子定数は $a = 54.69 \text{ \AA}$, $b = 98.02 \text{ \AA}$, $c = 57.8 \text{ \AA}$, $\beta = 106.88^\circ$, モザイク性は 0.27° であった。 $I/\sigma(I) = 2$ を基準にし、最終的に 2.7 Å 分解能の回折データを得た (Table)。今後、この結晶化条件を用いて阻害剤複合体を作成し構造解析を進める。

Table. 回折データの統計値

分解能 (Å)	48.17-2.70 (2.83-2.70)
Completeness (%)	98.9 (99.3)
Multiplicity	2.9 (2.9)
$\langle I/\sigma(I) \rangle$	11.7 (2.6)
Rmerge	0.053 (0.304)
CC(1/2)	0.998 (0.921)

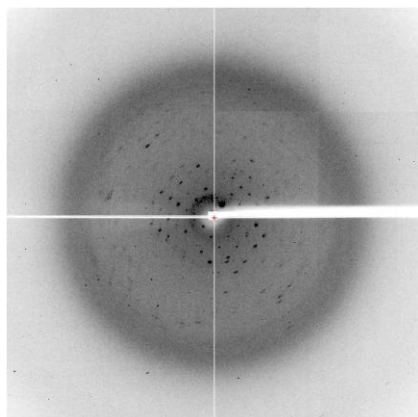


Fig.1 得られた回折像(条件 A)

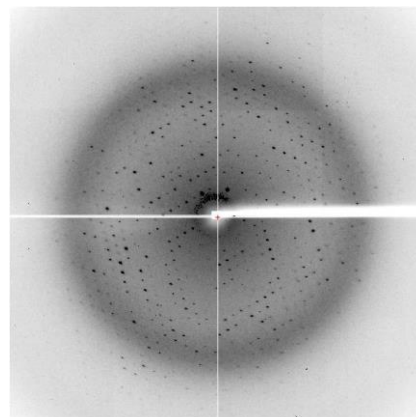


Fig.2 得られた回折像(条件 B)