



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¹

名古屋大学シンクロトロン光研究センター

キーワード：圧力，準安定構造，水和構造

1. 背景と研究目的

タンパク質の構造は，基底構造と準安定構造の間の平衡状態にある．近年では，タンパク質が機能を発現する際，エネルギーの高い準安定構造が重要な役割を果たしていると考えられている．タンパク質に圧力をかけると，基底構造から部分モル体積が小さい準安定構造へと平衡がシフトするため，我々は高圧力下における結晶構造を解析し，基底構造から準安定構造へと向かうタンパク質の動きを観測しようとして試みている．本実験では，真核生物の細胞骨格タンパク質であるアクチンを対象とした．アクチンはほとんどの真核生物の細胞中でもっとも発現量が多いタンパク質で，アクチン分子の動きを解析することはさまざまな生理現象を理解する上で重要である．

2. 実験内容

本実験では，ゲルズリンファミリータンパク質の一種フラグミンとアクチンの複合体結晶を用いた．フラグミン (*Physarum polycephalum* 由来，大腸菌発現) のN末端側ドメイン，及びアクチン (ニワトリ骨格筋由来) をモル比 1:1 で混合することで作成した複合体をハンギングドロップ蒸気拡散法で結晶化した．高圧力下における結晶構造解析に先立ってまずは常圧下で回折実験を行ない，結晶化条件および測定条件の確認を行なった．

3. 結果および考察

回折実験に用いた結晶の写真と回折像を Fig1, 2 に示す．結晶成長の異方性が強く細い結晶であったが，およそ 2 Å 程度まで反射を確認できた．また2つもしくは3つの結晶から成る多結晶であったが，回折スポットを分離して解析できた．得られた統計値を Table に示す． $I/\sigma(I) > 2$ を基準とした場合，2 Å 分解能の回折データとなった．構造解析に十分なデータと考えられるため，今後この結晶を用いて高圧力下の回折実験を進める．

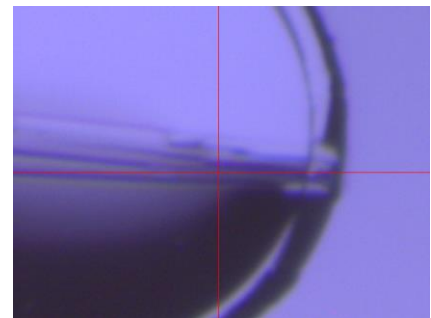


Table. 回折データの統計値

分解能 (Å)	100.0- 1.99(100.0- 1.99)
Completeness (%)	98.4 (95.3)
Multiplicity	7.2 (7.2)
$\langle I/\sigma(I) \rangle$	9.5(2.6)
CC(1/2)	99.4(76.3)

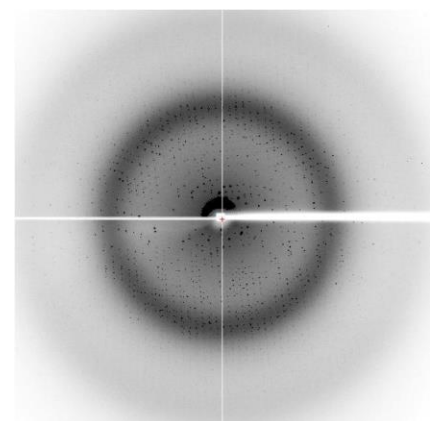


Fig.2 得られた回折像