



## ゲルに包埋されたタンパク質結晶を用いた構造解析

友池 史明<sup>1</sup>, 室山 晴菜<sup>1</sup>, 永江 峰幸<sup>2</sup>, 岡田 哲二<sup>1</sup>

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, アルギン酸ハイドロゲル, ソーマチン

### 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、物理的損傷に弱い。そのため、得られた結晶を損傷なくハンドリングしてX線を照射するには、熟練した手技が必要となり、高分解能の構造決定や結晶構造解析の自動化を妨げる要因の一つとなっている。そこで我々は得られた結晶をアルギン酸のハイドロゲルで包むことで、物理的損傷から保護する手法を開発している<sup>[1]</sup>。本手法ではキャピラリー中に形成させたタンパク質結晶をアルギン酸溶液により、二価の金属イオン水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。ハイドロゲル中のタンパク質結晶が構造解析に利用可能であることは、2019年にハイドロゲル中で保護したリゾチーム結晶に、あいちシンクロトロン光センターでX線を照射して回折像を得ることで確認されている<sup>[2]</sup>。しかし、本手法の有効性を評価するためには、他のタンパク質においても、アルギン酸ゲルで保護した状態で結晶構造解析に利用できるかを検証する必要がある。そこでソーマチンタンパク質の結晶をアルギン酸ハイドロゲルによって保護し、あいちシンクロトロン光センターで回折像を取得することで立体構造の決定を試みた。

### 2. 実験内容

1 M 酒石酸カリウムおよび pH 7.5 の 100 mM HEPES からなる結晶化溶液に、ソーマチン溶液を封入した後、アガロースゲルで封をしたガラスキャピラリーを浸した。このカウンターディフュージョン法によりガラスキャピラリー中にソーマチンの結晶を得た。得られた結晶をアルギン酸ナトリウム水溶液で二価の金属イオン水溶液に押し出すことで、ソーマチン結晶を含むファイバー状のハイドロゲルを得た。このハイドロゲルのうち、結晶が含まれている部分を切り出し、クライオプロテクタントであるグリセロールに浸した後、X線を照射することで回折像を得た。得られた回折像から分子置換法を用いて初期構造を決定した。

### 3. 結果および考察

アルギン酸ハイドロゲル中のソーマチンの結晶にX線を照射して得られた回折像を用いて、分子置換法により構造解析を行ったところ、1.25 Åの高分解能で立体構造を決定することに成功した(図1)。また、決定された構造中にクライオプロテクタントとしてソーキングしたグリセロールと示唆される電子密度がみられた。このことから、ハイドロゲル中の結晶に低分子化合物をソーキングさせられることが示唆された。

以上の結果から、リゾチーム以外でのタンパク質結晶でもアルギン酸ハイドロゲルで保護し、構造決定に利用できることが示された。



図1 決定された構造

[1] 特開 2021-084907

[2] PDB ID:6LT5