



放射光 X 線を用いた人工タンパク質分子の単結晶構造解析

佐藤 宗太

東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻 社会連携講座「統合分子構造解析講座」

キーワード：単結晶 X 線回折，自己集合，人工タンパク質

1. 測定実施日

2022 年 9 月 29 日 BL2S1（2 シフト）

2. 概要

フォールディング自己集合という新しい分子骨格の構築法を用いて構築された、絡まり構造を有する自己集合性分子に対して、放射光 X 線源を用いた単結晶 X 線構造解析を試みた。本成果は結晶性を確認できたが、構造決定にはいたらず、さらに良質な結晶調製の条件検討へとフィードバックすることができた。

3. 背景と研究目的

自然界には秩序だった絡まり構造が見られる。たとえば HK97 ウイルスは 72 の環状構造が 420 の交差数で絡まりあった構造を有している（図 1）^[1,2]。一方で、このような構造を人工的に構築する検討も行われてきており、これまでに金属イオンを鋳型として用いる手法^[3]や、金属イオンへの有機配位子の配位を駆動力とする自己集合を用いる手法^[4]が報告されている。

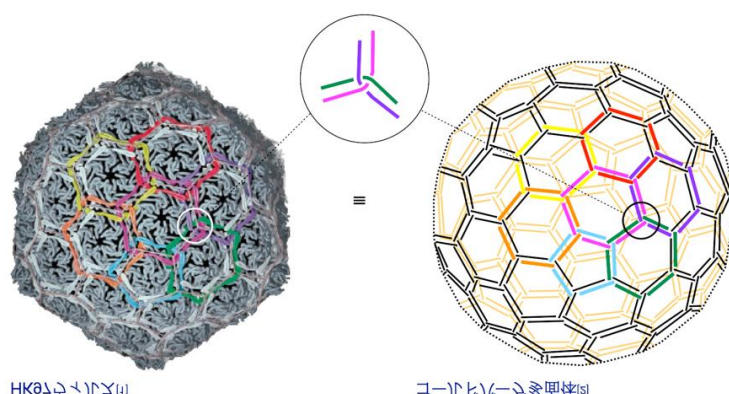


Fig.1 HK97 ウイルスの絡まり構造

本課題の代表者と共同研究関係にある東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻の藤田誠研究室・澤田知久研究室（現東京工業大学）では、配位を駆動力とする自己集合を用いる手法を基盤に、有機配位子の骨格としてペプチド鎖を用いることで、ペプチド鎖のフォールディングも分子設計に取り入れたフォールディング自己集合による絡まり構造の構築を検討してきている。フォールディング自己集合によって、環状の分子リンク^[5]、複数の環からなる分子リンク^[6]、さらに絡まりあったネットワーク^[7]の構築に成功している（図 2）。多数の配位子が金属イオンを介して連結されたこれらの分子は、人工タンパク質ともよぶべき巨大な構造体であり、広く興味をひく分子でありながら、その構造決定は多難を極める。今回、新しい配位子の設計により新規のフォールディング自己集合による錯体分子の合成に成功し、その単結晶の調製に成功した。複雑な立体構造を解明し、どのような絡まり構造であるかを明らかにするために、単結晶 X 線回折測定を行った。実験室に設置された in-house の回折計では輝度が弱く、低角に回折点を観測できる程度で構造解析には至らない。そのため、放射光 X 線源の利用を検討した。

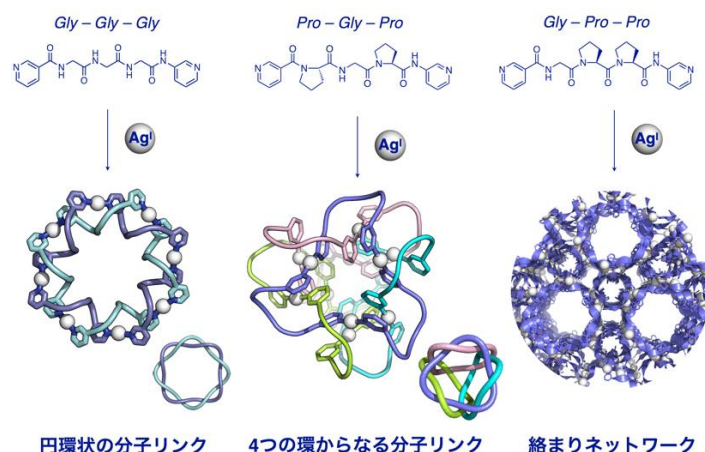


Fig.2 フォールディング自己集合によって構築した分子の例

4. 実験内容

BL2S1 に標準的に備えられている実験装置を用いて、絡まり構造を有するフォールディング自己集合によって構築した分子の結晶に対する回折実験を実施した。結晶試料はクライオプロテクタントを用いてループマウントし、フラッシュクーリング法によって凍結し、吹き付け低温装置を用いて 100 K 程度のクライオ条件で測定を行った。また、室温での測定も行い、クライオ条件による結晶性の劣化がないことを確認した。波長は直接法による初期位相の解析のために、高分解能が得られる 0.75 Å を用い、大面積の二次元検出器 (ADSC Q270) によってすべての回折点を記録した。

5. 結果および考察

得られた回折データは XDS ソフトウェアを用いてビームラインにおいて解析し、測定と同時進行で結晶性の判定を実施した。得られた回折点の形状やパターン、到達分解能から良質な結晶が得られる条件を判定した。クライオ条件に付することによる結晶性の劣化は無いことが判定できた。1 度の振動角あたり 30 秒程度の長い露光時間による回折データの取得も検討したが、構造解析ができる 1.3 Å 程度におよぶ到達分解能の回折点は得られず、結晶の調製条件のさらなる改善が必要であることがわかった。

6. 今後の課題

今回の BL2S1 における回折実験から得られたデータからは、絡まり構造を解明できるレベルの構造解析を行うことはできなかった。今回得られた結晶性の知見を元に、今後、より高品質な結晶調製条件を探索する。また、配位子構造の一部を改変することで、結晶中での分子充填構造を改善し、より高品質な結晶が得られる可能性もあるので検討を行う。今回の検討の後、他の放射光 X 線回折計を用いて検討を進めてきた結果、一部、結晶性の改善に至った例も得られてきている。論文として出版できるレベルの構造解析を達成し、配位子の分子設計との関連の議論や、NMR など他の手法による構造解析結果との整合性の議論などを含め、学会発表や原著論文としての発表をめざす。

7. 参考文献

1. *Science* **2000**, 281, 2129.
2. *THEOCHEM* **2005**, 756, 163.
3. *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 5095.
4. *Nature* **1994**, 367, 720.
5. *Chem* **2020**, 6, 294.
6. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 4519.
7. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 7228.