



圧力などの外部刺激を利用した蛋白質結晶構造解析

永江 峰幸
東京薬科大学・薬学部

キーワード：準安定構造，圧力，蛋白質結晶構造解析

1. 背景と研究目的

蛋白質は溶液中で最安定の基底状態と高エネルギーの準安定状態の平衡にある。我々が通常の X 線結晶構造解析で観測するのは、分布率の大きい基底状態の構造である。しかし蛋白質がその機能を発現する際には、過渡的に準安定状態になることが知られている。従って蛋白質の仕組みを理解するには、基底状態から準安定状態へ遷移する過程、すなわち動的な構造解析が必要である。一方、準安定状態の体積は基底状態の体積よりも小さいため、蛋白質に圧力をかけるとルシャトリエの原理に従って準安定状態の割合が増す。我々はこの性質に着目し、高圧条件下における蛋白質結晶構造解析を PF-AR NW12A や AichiSR BL2S1 で開発し、準安定状態の構造解析と動的な構造解析を試みている[1, 2]。同様の研究は海外でも試みられているが、実験的な難しさもあって、高圧蛋白質結晶構造解析が可能なビームラインは国内外を含めて数本しか無く、独創的な研究と言える。

ヒトの宿主防御タンパク質 A3 ファミリーは、HIV-1 などのレトロウイルスやレトロトランスポゾンに対して感染・増殖を強く抑制する。ヒトは 7 種類の A3 ファミリーを持っており、特に A3F, A3G, A3H（ハプロタイプ II 型）が抗 HIV-1 作用を示すことが知られている。今回の実験では A3H の動的な構造解析を目指しあいちシンクロトロン光センターの名古屋大学ビームライン 2S1 にて X 線回折実験を行なった。

2. 実験内容

蛋白質試料は、大腸菌発現系を用いて生産した後、アフィニティクロマトグラフィとゲル濾過カラムクロマトグラフィによって精製した。結晶は、シッティングドロップ蒸気拡散法を用いて作成し、グリセロールを含む抗凍結溶液に浸した後、液体窒素で凍結した。X 線回折実験は 95K の窒素ガス雰囲気下で、波長 1.12 Å の X 線を用いて行なった。

3. 結果および考察

X 線回折実験に用いた結晶を Fig.1 に示す。得られた回折データを解析した結果、空間群は $P2_12_12_1$ 、格子定数は、 $a=102.6$ Å, $b=105.4$ Å, $c=151.2$ Å であった。 $CC_{1/2} > 0.5$ を基準にすると、2.5 Å 分解能の良質の回折データであった。水和水や生体高分子間の相互作用様式を明瞭に議論するため、試料調製および結晶化実験の改良を行ない、2 Å 分解能程度まで高分解能化を目指す。

4. 参考文献

1. L. Chavas, T. Nagae, H. Yamada, N. Watanabe, Y. Yamada, M. Hiraki and N. Matsugaki, Journal of Synchrotron Radiation, 20, 838-842, 2014.
2. N. Watanabe, T. Nagae, Y. Yamada, A. Tomita, N. Matsugaki and M. Tabuchi, Journal of Synchrotron Radiation, 24, 338-343, 2016.

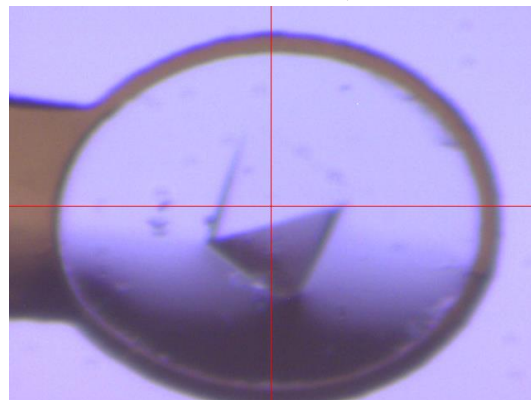


Fig.1 回折実験に用いた結晶の写真