

合成ゼオライトを用いたタンパク質の結晶化

**Nucleant-mediated protein crystallization with microporous synthetic zeolite
showing a promotion of specific crystal form**

菅原道泰, 浅田征彦, 森川裕子, 影山裕一, 国島直樹

Michihiro Sugahara, Yukuhiko Asada, Yuko Morikawa, Yuichi Kageyama, Naoki Kunishima

(理研 放射光科学総合研究センター)

(RIKEN SPring-8 Center)

e-mail: msuga@spring8.or.jp

タンパク質 X 線結晶構造解析は原子レベルでのタンパク質構造を決定できる手法の一つである。その X 線結晶構造解析において、構造解析に適した良質タンパク質結晶を得ることは最も重要である。良質結晶を得るためのタンパク質自動結晶化装置を用いた結晶化技術は近年構造ゲノムプロジェクトによって特に大きく発展した。しかしながら、結晶が得られても、回折分解能が構造解析に適さない場合、セル長が長すぎて回折データセット収集が困難な場合、位相決定が困難な場合がある。その様な場合、一般には異なる空間群の結晶を得ることでそれら問題を解決することが多い。異なる空間群の結晶を得るために広く用いられている手法は大規模な結晶化スクリーニングである。しかしながら、そのスクリーニングは時間と手間が掛かり、加えて十分な量のタンパク質を必要とする。また、異なる空間群の結晶が必ずしも得られるとは限らない。また結晶の性質を変える他の試みとして、ミュータントタンパク質、もしくはセレノメチオニンタンパク質のような改変タンパク質を用いる場合がある。しかしながら、その様なタンパク質を用いた結晶化の試みでは、ワイルドタイプと同一の結晶化条件で結晶が析出しない場合、回折実験に適した大きさの結晶が得られない場合、回折分解能が構造解析に適さない場合がある。したがって、それらタンパク質の結晶化における様々な問題を解決するには結晶化をコントロールする新しい方法が必要である。今回我々は新結晶化コントロール物質としてそれぞれ大きさが異なる細孔(3-13 Å)を有する合成ゼオライトのモレキュラーシーブ(MS) 3A、4A、5A、および 13X を *Thermus thermophilus* HB8、および *Pyrococcus horikoshii* OT3 由来タンパク質の結晶化に導入した。2 種類のタンパク質において MS なしで結晶が得られた条件を元に、それぞれの MS を加えて結晶化を行った結果、MS 5A の表面上からタンパク質結晶が析出した。回折実験の結果、MS 5A を加えたことによってその空間群が変わり、結果として回折分解能が大幅に改善された。また、ミュータントサンプルを用いた結晶化実験では、大規模結晶化スクリーニングを行っても結晶が得られなかったサンプルが、ワイルドタイプタンパク質結晶が析出した結晶化試薬に MS 5A を添加することで結晶化した。