

ロッキングカーブ測定によるタンパク質結晶の動力的回折の観測

横浜市大院生命ナノ, 東北大金研^A, 高エネ研^B, JASRI^C, 横浜創英大^D,
鈴木凌, 村田秀信, 小泉晴比古^A, 平野馨一^B, 杉山弘^B,
熊坂崇^C, 小島謙一^D, 橋勝

Observation of dynamical effect on protein crystals in rocking curve measurements

Yokohama City Univ., ^AInstitute for Materials Research, Tohoku Univ., ^BKEK,

^CJASRI, ^DYokohama Soei Univ.

Ryo Suzuki, Hidenobu Murata, Haruhiko Koizumi^A, Keiichi Hirano^B, Hiroshi Sugiyama^B,
Takashi Kumasaka^C, Kenichi Kojima^D, Masaru Tachibana

タンパク質分子の立体構造の解明は、タンパク質単結晶を用いた X 線構造解析が主流である。しかしながら、タンパク質分子は数 nm から数十 nm とした巨大で複雑な形状を持つこと、さらに、弱い分子間力によって結晶が構成されていることなどから、高品質な単結晶を得ることが難しい。これらを克服し、より詳細な構造解析を目指し、これまで多くの高品質なタンパク質結晶の育成法が開発されてきた。実際に、構造解析という観点から結晶性の向上も報告されている。

ここで、タンパク質結晶の結晶性が向上するにつれて、一つの疑問が生まれる。それは、タンパク質結晶の完全結晶の可能性である。一般的に動力的回折は Si のような完全結晶で生じるため、タンパク質結晶における動力的回折の観察は非常に興味深い。しかしながら、タンパク質結晶における明瞭な動力的回折は報告されていない。我々は、これまで X 線トポグラフィを用いたタンパク質結晶の欠陥の評価やロッキングカーブ測定による結晶性の評価を行ってきた。今回、タンパク質結晶のひとつであるグルコースイソメラーゼ (GI) 結晶を用いたロッキングカーブ測定で、振動曲線が初めて観測された。そこで、振動曲線の定量的な解析結果について報告する。

GI 結晶は $I222$ の対称性をもつ体心斜方晶構造を持つ。格子定数は $a=9.39$ nm、 $b=9.96$ nm、 $c=10.29$ nm である。GI 結晶はハンギングドロップ法で種結晶を育成させた後、成長溶液に移しガラス基板上に 200-800 μ m の厚さで成長させた。単色 X 線トポグラフィおよびロッキングカーブ測定は高エネルギー加速器研究機構 PF BL-20B にて測定を行った。

得られた GI 結晶は無転位で、干渉縞が見られた事から非常に高品質な完全性の高い結晶である事が確認された。これらの結晶を用いて、011 回折のロッキングカーブ測定を行ったところ、振動曲線を示すプロファイルの観測に成功した。さらに、入射 X 線の波長および結晶の厚さに依存した振動曲線の変化が明瞭に観察された。これらのふるまいは動力的回折理論から予測されたプロファイルと非常に良い一致を示した。このことから、タンパク質結晶においても動力的回折が起こることが実証された。さらに、これらの結果はタンパク質分子の構造や電荷密度の決定において、動力的回折を考慮する必要がある可能性を示唆している。当日は、動力的回折理論に基づいた具体的な解析結果を示し、議論する。