

X線トポグラフィによるグルコースイソメラーゼ結晶の 完全性評価

Evaluation the perfection of Glucose isomerase crystals by X-ray topography

岸健晴¹, 鈴木凌¹, 小泉晴比古², 若生啓³, 小島謙一^{1,3}, 橘勝^{1*}

¹横浜市立大学 〒236-0027 神奈川県横浜市金沢区瀬戸 22-2

²東北大学金属材料研究所 〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平 2-1-1

³横浜創英大学 〒226-0015 神奈川県横浜市緑区三保町 1 番地

Takeharu Kishi¹, Ryo Suzuki¹, Haruhiko Koizumi²,

Kei Wako³, Kenichi Kojima^{1,3}, Masaru Tachibana^{1*}

¹Yokohama City University, 22-2 Seto, Kanazawa-ku, Yokohama, 236-0027, Japan

²Institute for Materials Research, Tohoku University, 2-1-1, Katahira, Aoba-ku, Sendai 980-8577, Japan

³Yokohama Soei University, 1 Miho-cho, Midori-ku, Yokohama, 226-0015, Japan

1 はじめに

タンパク質分子の 3 次元構造の決定は、創薬において重要であり、それには高品質なタンパク質結晶が必要不可欠である。しかし、そのような結晶の育成は困難であるため、様々な方法で結晶成長に関する研究がされている。その一つとして、化学固定された種結晶を用い、再成長させることで成長メカニズムを調べられているが[1]、化学固定が結晶成長にどのように影響するかは明らかにされていない。また、我々は近年、タンパク質の一種であるグルコースイソメラーゼから、高品質な結晶を育成できることを発見した。しかし、グルコースイソメラーゼ結晶においては X 線による完全性や欠陥の評価は行われていない。

そこで今回我々は、化学固定した種結晶から育成したグルコースイソメラーゼ結晶に対し、X 線トポグラフィによって完全性及び結晶欠陥の一種である転位の評価を行った。

2 実験

化学固定した種結晶から育成したグルコースイソメラーゼ結晶は、ハンギングドロップ法で種結晶を育成し、種結晶を化学固定した後、シッティングドロップ法で種結晶を再成長させることで育成した。

X 線トポグラフィは BL20B で行った。また、ビームにはモノクロメーターで単色化した波長 1.2 Å の単色 X 線を用いて、サンプルの(101)面にほぼ垂直に入射した。

トポグラフィ像は X 線フィルム (Agfa D2) 及び原子核乾板 (Fujifilm Co. Ltd., Resolution:15 μm) で

取得した。フィルム・原子核乾板 - サンプル間距離は 25 cm であった。

3 結果および考察

図 1 は、化学固定した種結晶から育成した結晶の 020 反射のトポグラフィ像である。矢印で示された黒いコントラストの種結晶から 2 本の直線転位が、結晶外部に向かって発生していることがわかる。これは化学固定による種結晶表面の荒れに起因していると考えられる。また、干渉縞が観察されたことや、これまで我々が研究してきた鶏卵白リゾチーム結晶と比べ欠陥が少ないことから[2]、グルコースイソメラーゼ結晶の完全性は高いと考えられる。

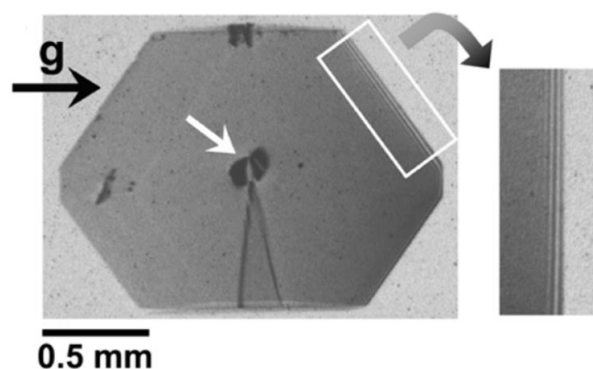


図 1 化学固定した種結晶から育成したグルコースイソメラーゼ結晶の X 線トポグラフィ像

4 まとめ

X 線トポグラフィを用いて、化学固定した種結晶から育成したグルコースイソメラーゼ結晶の完全性及び転位の評価を行った。種結晶を化学固定

することにより、種結晶表面から成長する直線転位が観察された。また、干渉縞が観察されたことから、グルコースイソメラーゼ結晶の完全性は高いと考えられる。

参考文献

[1] I. Yoshizaki *et al.*, Rev. Sci. Instrum. **84**, 103707 (2013).

[2] Y. Mukobayashi *et al.*, Phys. Status Solidi **A206**, 1825 (2009)

成果

[1] H. Koizumi *et al.*, Cryst. Growth Des. **14**, 5111 (2014)

* tachiban@yokohama-cu.ac.jp