

Bovine 由来 H-protein の高分解能X線結晶構造解析 ; 水素原子の可視化に関する考察

東浦 彰史¹、倉兼 猛¹、松田 真¹、鈴木 守¹、伊中 浩²、佐藤 勝³、
小林 智之³、田仲 広明⁴、藤原 和子⁵、中川 敦史¹
¹阪大・蛋白研、²(株)丸和栄養食品、³(独)宇宙航空研究開発機構、
⁴(株)コンフォーカルサイエンス、⁵徳島大・疾患酵素、

近年、高輝度かつ低発散角のシンクロトン放射光、極低温でのX線回折実験、結晶化法の改良、結晶学的構造精密化技術の改善などにより、X線結晶構造解析によって得られる蛋白質構造の分解能が大きく改善された。分解能の向上により情報量が飛躍的に増加し、異方性温度因子の導入やマルチプルコンフォメーションのモデル化など、精度の高い構造構築と構造精密化を行うことが可能となる。高分解能データを用いた精度の高い構造精密化により、本来観測が困難であるとされている水素原子の電子密度を多数観測することが可能となる。また、さらなる高分解能化により結合電子をも考慮に入れた構造精密化に関する研究も盛んに行われている。現在、Protein Data Bank には 60,000 を超える蛋白質の立体構造が登録されているが、0.9 Å 分解能を超える構造は全体の 0.2%程度であるため、より多くの高分解能構造解析の例が求められている。

高分解能のX線回折強度を測定するためには結晶と検出器との距離を短くする必要があり、さらに高分解能のデータを収集するためにはX線の波長を短くする必要があるため、放射光の利用は必要不可欠である。しかし、高分解能のX線回折を示す結晶を得ることは非常に困難であり、その実験例の少なさから現状の放射光施設でのデータ収集には工夫が必要である。我々は結晶化、X線回折強度データ測定、構造解析を高分解能で行うことにより、高分解能構造解析のための汎用的な手法の提案や他の低分解能蛋白質の構造解析への応用を目指している。

今回、モデル蛋白質として Bovine 由来グリシン開裂酵素系 H-protein を用いた高分解能X線結晶構造解析を行った。Photon Factory の BL-5A で X線回折強度データ収集を行い、最大 0.80 Å 分解能の回折点を観測した。また、0.88 Å 分解能のデータを用いて構造解析を行い、 $R_{\text{work}}=11.3\%$ 、 $R_{\text{free}}=13.2\%$ での構造決定に成功した。得られた高分解能の電子密度では約 40%の水素原子の可視化に成功した。この高分解能データを詳細に検討し、水素原子の可視化に関しての考察を行った。