

ハロアルカン脱ハロゲン酵素の結晶化における Serial microseeding の効果

○ 佐藤 優花里¹、夏目 亮¹、津田 雅孝²、永田 裕二²、千田 俊哉³

¹JBIC、²東北大・生命科学、³産総研・BIRC

ダイズ根粒菌 *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 から単離したハロアルカン脱ハロゲン酵素 DbjA は、二量体の酵素で、既知の脱ハロゲン酵素よりも多くの残留性有機塩素化合物を分解し、キラル化合物を合成する生体触媒としての機能を有する。DbjA 特有の基質特異性を解明するために構造決定を試みたが、DbjA の結晶は得られなかった。そこで、C 末に His-tag を付与した DbjA (His-DbjA) の結晶を種とした microseeding による DbjA の結晶化を行った。最初に得られた結晶は 12 Å 程度の回折しか示さなかった。ところが、その結晶を種として microseeding を行い、新たに得た結晶を種に microseeding を行うという操作を繰り返した結果、最終的に 1.85 Å の回折を示す結晶を得ることができた。Seeding は、結晶または結晶を砕いたものを核として用いることにより、自発核形成の起こる条件を探索する必要があるため、迅速に結晶の成長を促進できる方法である。本研究では、タンパク質の結晶化における seeding の効果の要因を探るために、His-DbjA と DbjA の結晶構造を比較した。

His-DbjA と DbjA の結晶は、同じ結晶化条件で得られたにも関わらず、異なる空間群に属していた。また、His-DbjA ($P2_12_12$) の非対称単位は二つの二量体から、DbjA ($C2$) の非対称単位は一つの二量体から構成されていた。したがって、seeding の過程で $P2_12_12$ の非対称単位を構成する二つの二量体の並びが $C2$ の非対称単位の並びに変化したと考えられた。 $P2_12_12$ の格子面(100)または(010)に垂直に $C2$ の非対称単位を立体障害なく配置できることから、His-DbjA の格子面を起点に DbjA の結晶が成長したと考えられた。以上の結果から、自発核形成の条件を見出せない場合でも、異種タンパク質の結晶を seeding によって核として与えれば、その核を起点に目的タンパク質に適した分子の並びの結晶成長が起こり得ることが示された。

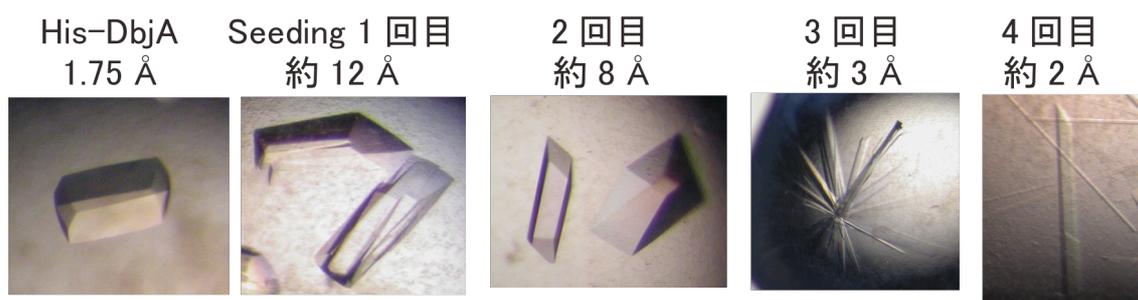


図. His-DbjA と seeding の回数毎に形の変化した DbjA の結晶