



タンパク質結晶内ジスルフィド結合による 新規超分子構造体の創成

安部 聡
東工大生命理工

1. 背景と研究目的

タンパク質の自己集合体は、合成分子を使った超分子集積体に比べ、特異な分子環境や構造を 10-100 nm のサイズ領域で構築することが可能であり、新しい材料化学を切り開く手法として近年盛んに研究されている。タンパク質をビルディングブロックとしてボトムアップ的に構築されたケージやチューブ構造が多数報告されているものの、機能が達成された例はわずかであり、安定なタンパク質集合体作成手法の確立が必要不可欠である。そこで、本研究では、タンパク質結晶内に構築される高次集積構造をそのまま溶液中に切り出すことができれば、精密なタンパク質集合体の機能化技術になりうると考え、「タンパク質結晶内ジスルフィド結合による新規超分子構造体の創成」を目的とする(図 1)。これまで、我々は、細胞内で結晶化する「多角体」のカップ構造の単量体間をジスルフィド結合で固定化することにより、多角体結晶からカップ構造を構築することに成功している。本実験では、タンパク質結晶内の特異な超分子構造を溶液中においても維持するため、タンパク質結晶の分子界面をジスルフィド結合により架橋化し、溶解する。具体的には、リブロース 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco)、CutA タンパク質にジスルフィド結合を形成するためのシステイン残基を導入した変異体を作成し、チューブ、シートなどの構造体の構築を目指す。

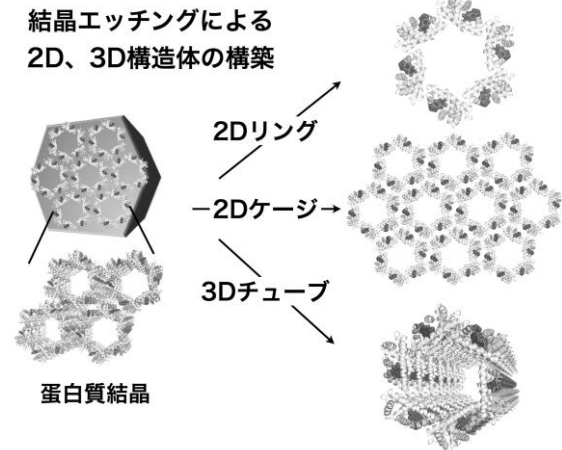


図 1. タンパク質結晶内架橋化を利用した超分子構造体の創成

2. 実験内容

システインを導入したタンパク質を作成後、結晶化し、過酸化水素で酸化することにより、結晶内で超分子構造体を架橋化する。続いて、架橋化した結晶を溶解し、超分子構造体を溶出する。SDS-PAGE、MALDI TOF-MS など各種分析手法により構造体のキャラクタリゼーションを行う。シンクロトロンでの実験では、変異体の架橋化前後の結晶構造を明らかにすることにより、架橋化反応の進行と結晶内での超分子構造体の作成を確認する。今回は、チューブ構造を形成する Rubisco 変異体とシート構造を形成する CutA 変異体の結晶化を行い、作成した結晶の回折実験を BL2S1 にておこなった。一部の結晶に関しては、360 枚のデータコレクションを行った。

3. 結果および考察

回折実験の結果、Rubisco については、WT の回折パターンが得られたものの、変異体は得られなかった。また、Cut タンパク質についても回折パターンは得られたものの、分解能も悪く、指数付けには至らなかった。今回、目的の変異体の結晶構造や結晶系の決定には至らなかったが、今後は、高い分解能を得るためにこれらのタンパク質の精製度をさらにあげるとともに、結晶化条件を検討し、最適な条件をみつけ、結晶内でのジスルフィド結合反応を行う。