

# 27L-pm03

タンパク質の結晶化における沈殿剤の影響の解析

○不動 聡志<sup>1</sup>, 斉 非<sup>1</sup>, 額賀 路嘉<sup>2</sup>, 米田 友貴<sup>1</sup>, 根矢 三郎<sup>1</sup>, 星野 忠次<sup>1</sup> (<sup>1</sup>千葉大院薬, <sup>2</sup>城西国際大薬)

【目的】タンパク質の X 線結晶構造解析を行う上で目的タンパク質の結晶化が必須であるが、結晶化条件の探索はしばしば困難を伴う。その原因の 1 つとして、限られた条件でのみ結晶が析出する理由が明らかでないことが挙げられる。我々は先行研究においてタンパク質の結晶構造における空間群が、結晶化の際に用いられる沈殿剤の種類に大きく依存することを見出した。そこで本研究では、結晶化における沈殿剤の役割の解明ならびにタンパク質結晶化機構の解明を進めた。

【方法・結果】タンパク質として、インフルエンザウイルスの持つポリマーゼ複合体中の PA サブユニットの N 末端側約 200 残基(PA<sub>N</sub>)を用いた。PA<sub>N</sub>の結晶化条件を探索し、3つの条件で結晶化・構造解析に成功した。用いた沈殿剤はそれぞれ硫酸アンモニウム、酒石酸カリウムナトリウム、PEG8000 である。それぞれの空間群は順に P4<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2, P4<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2, C2であった。同じ空間群となった2つの沈殿剤には、タンパク質に対し類似的作用があると推察される。次にPA<sub>N</sub>の結晶構造をもとに、ハンギングドロップ中の沈殿剤濃度を再現するように沈殿剤の分子をタンパク質の周囲にランダムに発生させたモデルを3つの沈殿剤それぞれについて2つずつ作り、それぞれ100ナノ秒の分子動力学シミュレーションを行った。その結果、硫酸アンモニウムと酒石酸カリウムナトリウムの条件では、沈殿剤分子はタンパク質の周りに等方的に分布するのではなく、特定の方位に大きく偏って存在することが判った。タンパク質表面のうち沈殿剤が偏って分布する部位は、結晶中におけるタンパク質分子どうしの接触部位以外の部位に一致した。そのため、これらの沈殿剤はタンパク質の溶解度を下げるだけでなく、タンパク質分子どうしの相互作用の様式を限定するようにはたらし、空間群を規定していると考えられる。