

高分解能結晶取得システム

[技術の概要]

結晶の品質が低い原因のひとつとして、タンパク質分子表面の結晶パッキング部位におけるリジン残基の存在が挙げられます。タンパク質分子表面のリジン残基を実験的に検出できればタンパク質結晶の高品質化につながります(図1)。我々は化学修飾によるタンパク質の分子表面リジン残基の簡便な検出法を開発しています(図2)。

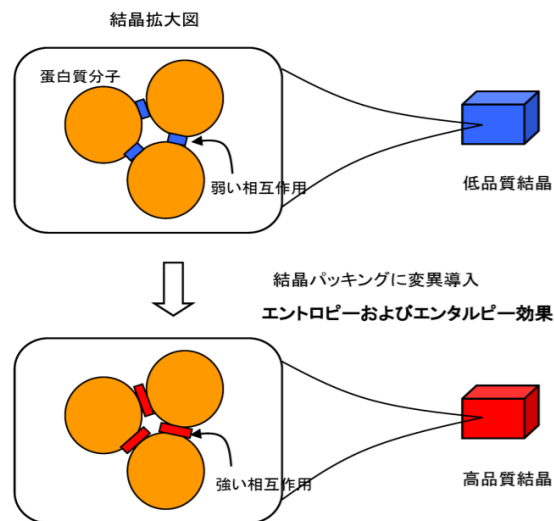


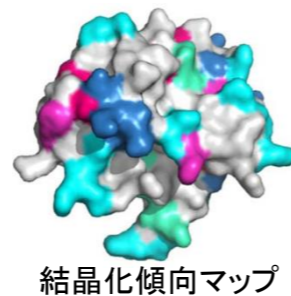
図1 結晶パッキング部位への変異導入による結晶品質の向上

パッキング部位の表面リジン残基は弱い相互作用の原因となるので、そこに変異導入を行う。

図2 分子表面リジン残基の特定手順

最終的にペプチドマッピングを行って、標識された分子表面リジン残基を特定する。

実験的に検出された分子表面リジン残基を結晶化傾向の高いアミノ酸残基に置換する変異体設計を行い、解析目的タンパク質の初期結晶を取得します。



[技術の利用例]

左記の技術で得られた変異体の初期結晶に当グループで開発した下記の要素技術を適用することで、解析目的タンパク質の高分解能結晶を効率的に取得できます。

1. ゼオライトによるタンパク質の結晶化制御
ヘテロエピタキシャル成長を促進する鉱物を用いてタンパク質を結晶化します。

Sugahara *et al.* (2008) *Acta Cryst. D* **64**, 686-695

Sugahara *et al.* (2011) *Crystal Growth & Design* **11**, 110-120

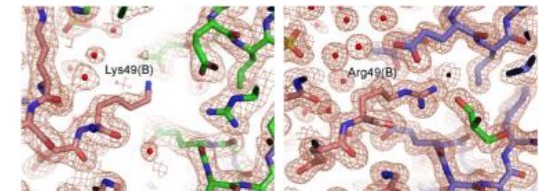


ゼオライト表面に析出したタンパク質結晶

2. 変異導入によるタンパク質結晶の品質改善

結晶パッキングを強化する変異導入によりタンパク質結晶のX線回折能を改善します。

Mizutani *et al.* (2008) *Acta Cryst. D* **64**, 1020-1033



野生型

変異型

連絡先

[所属] 理化学研究所

放射光科学総合研究センター

[名前] 国島直樹

[E-mail] kunisima@spring8.or.jp