

酵素の立体構造解析

X線レーザーで成功

京大・理研など

京都大学大学院農学研究科の榎田哲哉助教、同大学院医学研究科の岩田想教授、理化学研究所の菅原道泰特別研究員、大阪大学蛋白質研究所の鈴木守准教授、高輝度光科学研究センターの登野健介チームリーダーらの研究グループは、X線自由電子レーザー(XFEL)施設SACLAを用いた連続フェムト秒結晶構造解析(SFX)により、プロテインゼK(ケラチンを消化する機能を持つ酵素)の構造を常温かつ原子分解能で解析することに成功した。

1.20Å以下の分解能で、各原子を独立して見分けることができる原子分解能では、各原子を独立して識別でき、原子間の距離を正確に見積もれる。研究グループは、これまでSFXにおいて7keVや10keVのX線を用いて複数回以上の実験実績のある数種のタンパク質の中から、回折分解能が良好なプロテインゼKを選び、このプロテインゼKの微結晶(8×12μm)をセルロース媒体と混合し、SACLAの高エネルギーX線(13keV)を用いてSFX実験を行った。その結果、4時間程度で構造解析に必要な8万2千枚の回折データを取得できた。

この成果をもとに、常温でαヘリックスやβストランドなどタンパク質の2次構造を形成する部位の水素原子の可視化にも成功した。また、Springerにおいて凍結低温条件下での単結晶構造解析を行い、SFXで得られた構造との相違点を検討したところ、活性部位の構造は比較的に似ていたものの近傍の水分子の配置が異なっていた。さらに、常温特有のタンパク質側鎖の動きも確認できた。

榎田助教の話「今後、2液混合法の開発等を進めることでXFELの特性である時分割解析を試み、酵素―基質の相互作用、酵素反応に伴う水分子、側鎖の動的構造変化を追跡し、生命現象解明のための構造情報を獲得したいと考えています」