

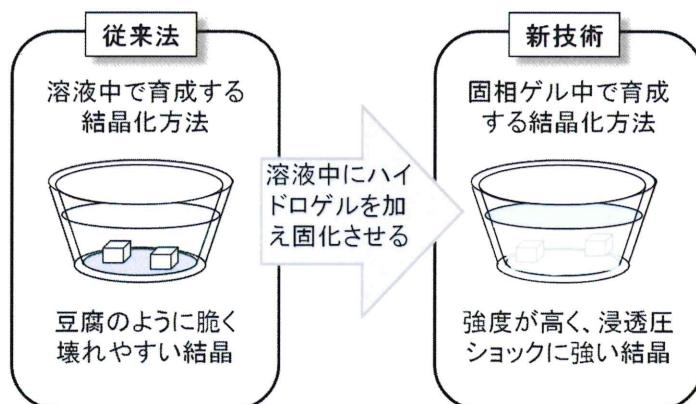
凝固したハイドロゲル中でタンパク質結晶を育成させる新規結晶化技術を開発

固相ハイドロゲルを利用したタンパク質結晶化技術の開発と応用

(阪大院理) ○杉山成、廣瀬未果 (阪大院工) 清水典子、高橋義典、丸山美帆子、松村浩由、井上豪、森 勇介 (北大低温研) 佐崎元 (株創晶) 安達宏昭 (京府大院生命環境) 高野和文 (東工大院生命理工) 村上聰 [1T10]

(Tel: 06-6879-7701, Cell-phone: 090-3976-7379, E-mail: sugiyama@chem.eng.osaka-u.ac.jp)

大阪大学大学院理学研究科の杉山 成 特任准教授、工学研究科の森 勇介教授、株式会社創晶 (安達 宏昭 社長) らの研究グループは、溶液中で育成させることが常識とされてきたタンパク質の結晶化を、完全に固化したハイドロゲル中 (固相ゲル中) で育成させる結晶化技術 (特許出願中) を開発した。この技術によって育成した結晶は、浸透圧ショック耐性や機械的強度の上昇など、従来の方法では実現不可能な課題を解決した。さらに、固化した化学合成ポリマー中での結晶化にも成功し、汎用性に優れた技術であることを証明した。これらは、疾患関連タンパク質と新薬候補化合物との複合体結晶を容易に準備できる可能性があり、膨大な化合物ライブラリーから新薬候補を探し出す「創薬スクリーニング」への応用が期待される。

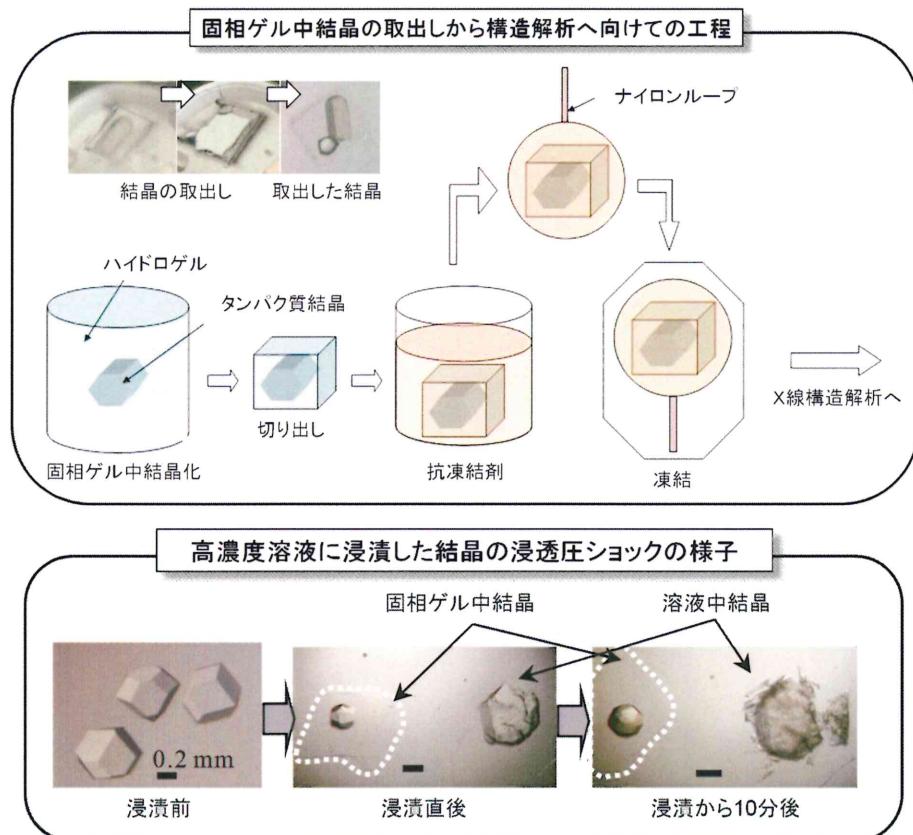


溶液中で育成させることが常識とされてきたタンパク質結晶化を 固化したアガロースゲル中および化学合成ポリマーゲル中で育成させることに成功

バイオサイエンス分野におけるタンパク質の立体構造情報の重要性は、益々増大しつつある。特に、薬剤となりうる様々な化合物とタンパク質との相互作用を、立体構造情報を基に議論し、生体内における種々の生物反応を考察することは、分子設計や創薬という観点から考えれば必要不可欠である。このような研究を行うに当たって必要になるタンパク質の立体構造情報を、原子レベルで得るために最も強力な手段はX線構造解析であるが、この研究を行うためには、良質なタンパク質の結晶を作製する必要がある。ところが、タンパク質結晶は豆腐のように脆く、非常に壊れやすい。この不安定性の問題により、短時間で高精度なタンパク質立体構造情報を得る技術は未だに確立されていない。これは、X線構造解析に必須な、結晶の凍結 (放射線損傷を回避させるため必須) と結晶のマウント操作において、技術的進展が見られず、現在でも人の手による不確実な方法によって結晶を取り扱うため、結晶

自体に損傷を与えるからである。また、新薬開発の現場では、新薬候補化合物と疾患関連タンパク質との複合体結晶を得るために、新薬候補化合物が溶解した溶液中にタンパク質結晶を浸漬させる方法がとられている。ところが、多くの化合物は高濃度の有機溶媒および塩溶液中にしか溶けないため、タンパク質結晶を浸漬したときに生じる浸透圧ショックが、結晶自体に致命的な損傷を与えることが大きな問題となっていた。

これらの問題を解決するために、研究チームは以前から固相ゲル中でタンパク質結晶を育成させる新規技術の開発に取り組んできた。この技術によって育成した結晶は、固相ゲルに包まれているため、それが保護材となり、結晶に直接触れることなく取り扱うことができる。また高品質な結晶が得られやすく、高精度のX線回折データを再現性良く得ることに成功している。さらに重要な特徴として、①高濃度の有機溶媒および塩溶液中に固相ゲル中結晶を浸漬しても、浸透圧ショックによる損傷を回避できることが挙げられる、また②ビックアーズ強度測定装置を用いて結晶強度を測定したところ、従来法の溶液中結晶よりも飛躍的に機械的強度が高くなっていること証明した。これらの結果は、これまでの常識を覆す世界で初めての成果である。このことは、従来法では困難であった重要な疾患関連タンパク質の構造解析を容易にし、また高濃度の有機溶媒に溶けた新薬候補化合物と疾患関連タンパク質との複合体結晶を容易に作製できる可能性を秘めている。そのため、これまで困難であった複雑な「カギ穴」に合う「カギ」を膨大な化合物ライブラリーから探索する「創薬スクリーニング」への応用が期待される。



<適用分野> 医薬品開発、バイオエネルギー、廃棄物処理、バイオセンサー、プロテインチップ、電子デバイス、食品開発