

Photon Factory における連続滴定 X 線溶液散乱測定を用いた 蛋白質複合体の測定・解析環境の構築

米澤健人¹、清水伸隆¹、上久保裕生²

¹ 高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・構造生物学研究センター

² 奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・物質創成科学領域

蛋白質におけるX線溶液散乱(BioSAXS)は、溶液中における蛋白質分子の概形や、慣性半径等の構造情報を抽出することが出来る手法である。近年では、複数の蛋白質同士が結合することのできる蛋白質複合体に対してSAXS測定から溶液構造解析へのアプローチが盛んに行われている。しかしながら、従来のBioSAXS測定において正確な溶液概形を取得するためには単分散な試料とすることが必須であり、蛋白質群の混在した状態から標的とする複合体のみの成分を抽出することが要求される。

現在、複合体を対象とした標準的な測定手法となりつつあるゲル濾過クロマトグラフィーとSAXSを組み合わせたSEC-SAXSはゲルろ過によって複合体のみを単離した上でSAXS測定することができるが、単離できる蛋白質複合体は蛋白質同士が強い結合によって形成されている複合体のみに限られ、蛋白質同士が弱く結合する場合(10~100 μ M)は結合に関与する蛋白質群と形成された複合体との分離が困難となる。一方でSEC-SAXSに対して、弱く結合する複合体の散乱成分を抽出する手段として、連続滴定X線溶液散乱測定法(Tit-SAXS)が近年開発されてきた。この手法は滴定によって、複合体を構成する蛋白質成分の濃度を変化させ、複合体形成の平衡反応から解析的に複合体のみに由来する散乱曲線を抽出することができる手法である。この測定を行うためには濃度を厳密に制御するための高精度な実験と、結合する蛋白質濃度の希釈率を変えた多点測定が必要となる。この濃度変調を高精度で行うことのできる μ 流路型自動サンプリングシステムは少量の蛋白質量で濃度の多点測定を実現することができる[1]。この装置はシリンジポンプによって3つの溶液の流速を制御しており、滴定で1つの溶液の濃度を変える際には、3液の流速比を層流の幅の比へと変換させることによって変調させることができる。本研究では、この μ 流路型自動サンプリングシステムをPhoton Factory(PF)に導入し、SEC-SAXSでは測定できない蛋白質複合体の系を対象としたTit-SAXSの測定・解析基盤の構築を目指す。本発表では μ 流路型自動サンプリングシステムを用いたtit-SAXSの測定・解析環境のPFへの導入状況について発表する。

[1] H. Kamikubo. (2018). *Journal of Computer Chemistry Japan* 17,57-64.