

## D-キシロースイソメラーゼ結晶の水和構造の解析

Neutron Diffraction Analysis of Hydration  
in D-Xylose Isomerase

菅原 洋子<sup>1)</sup> 大滝 正訓<sup>1)</sup> 山村 滋典<sup>1)</sup> 田中 伊知朗<sup>2)</sup> 新村 信雄<sup>3)</sup>

Yoko SUGAWARA Masanori OOTAKI Shigefumi YAMAMURA Ichiro TANAKA Nobuo NIIMURA

大原 高志<sup>4)</sup>

Takashi OHHARA

<sup>1)</sup>北里大理 <sup>2)</sup>茨城大工 <sup>3)</sup>茨城大院理工 <sup>4)</sup>原子力機構

斜方晶 D-キシロースイソメラーゼは、含水量の約2割の減少により、体心格子 ( $I222$ ) から単純格子 ( $P2_12_12$ ) へ転移する。中性子構造解析により水和構造の変化を明らかにする事を目的とし、中性子回折強度のテスト測定を行った。乾燥状態の結晶について分解能  $3.0 \text{ \AA}$  程度の回折を得られる事が明らかになった。

**キーワード** : D-キシロースイソメラーゼ、水和構造、相転移

### 1. 目的

D-キシロースイソメラーゼは、D-キシロースとD-キシルロースの変換反応などを触媒する酵素で、中性子結晶構造解析が報告されている<sup>1)</sup>。申請者らはこの結晶について含水量の約2割の減少が体心格子 ( $I222$ ) から単純格子 ( $P2_12_12$ ) への変換を引き起こすことを見出した。本課題では、中性子結晶構造解析により水和構造を明らかにし、蛋白質間相互作用における水と水の役割を解明することを目指している。

### 2. 方法

D-キシロースイソメラーゼの単結晶 ( $2.5 \times 2 \times 1.5 \text{ mm}$ ) を  $\text{BaCl}_2$  飽和溶液 (密閉系内を相対湿度 88% に制御) とともに石英キャピラリーに封じ、波長  $2.6 \text{ \AA}$  の中性子を用い BIX-4 により回折強度の測定を行った。

### 3. 研究成果

上記の方法により乾燥した結晶は、露光時間 30 分で分解能  $3 \sim 4 \text{ \AA}$  程度、露光時間 5 時間で分解能  $2.5 \sim 3 \text{ \AA}$  程度の回折を与えることを確認した。露光時間 5 時間、結晶の回転角  $10^\circ$  間隔で、静止写真を測定し、得られた回折強度データについて指数付けを行なった。乾燥前の結晶の結晶学データは空間群  $I222$ 、 $a=94.1$ ,  $b=99.7$ ,  $c=101.4 \text{ \AA}$  であるが、回折強度測定開始時 (結晶をキャピラリーに封入してから3日後) の結晶学データは、空間群  $I222$ 、 $a=94.57$ ,  $b=87.64$ ,  $c=99.76 \text{ \AA}$  で、乾燥前と比べ  $b$  軸長が 10% 程度縮み、中間状態にあった。測定を開始し、1 日を経過する頃から  $b$  軸長がさらに短くなり、乾燥状態 (結晶学データ: 空間群  $P2_12_12$ 、 $a=96.60$ ,  $b=83.34$ ,  $c=98.44 \text{ \AA}$ ) へと転じた。中間状態から乾燥状態への転移の前後において結晶性に顕著な変化は見られなかった。

### 4. 結論・考察

昨年度と比べ、体積が 2 倍程度の結晶を作成し、ゆっくり乾燥させることにより、相転移後の結晶について  $3.0 \text{ \AA}$  程度の分解能で中性子回折強度を得ることが出来た。しかし、全強度データを得るには露光時間の短縮を必要とする。今後、一層の結晶の大型化と乾燥処理方法の改善による乾燥後の結晶の結晶性の向上を図ることを予定している。

### 5. 引用(参照)文献等

1) Katz et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103** (2006) 8342.