

α -トロンビンとトリプシンの中性子を利用した構造解析

Neutron Structure analyses of thrombin and trypsin

川村 健治¹⁾ 山田太郎¹⁾ 栗原和男²⁾ 田中 伊知朗¹⁾ 新村 信雄¹⁾

Kenji KAWAMURA Taro YAMADA Kazuo KURIHARA Ichiro TANAKA Nobuo NIIMURA

1)茨城大学 2)原子力機構

(要約2～3行)

JRR-3のBIX-4を用いてウシ β -トリプシン-BPTI複合体とヒト α -トロンビン-ビバリルジン複合体結晶の中性子回折実験をおこなった。

キーワード: ウシ β -トリプシン, ヒト α -トロンビン, 中性子単結晶構造解析

1. 目的

トロンビンと阻害剤の複合体結晶の水素位置を含めた構造を決定し、その相互作用を明らかにすることによりドラッグデザインに必要な知見を得る。活性部位のプロトン化の状態を観察することに反応機構の新しい情報を得る。トリプシンと阻害剤複合体について、モデルタンパクとして比較のために中性子単結晶構造を行う。

2. 方法

トロンビン-阻害剤ビバリルジン複合体については体積 2 mm^3 の結晶を使用した。トリプシン-BPTIについては体積 2.2 mm^3 の結晶を使用した。中性子回折実験は20 MW JRR-3に設置されたBIX-4を用いて室温でおこなった。トリプシン複合体については4時間露光/フレームで 0.3° ステップスキャンによる測定をおこない275枚の回折像を得た。その後、HKL社のDenzo, Scalepackを用いてデータ処理をおこない回折強度データを得た。

3. 研究成果

30分間の露光でトロンビン-ビバリルジン複合体は 3.5 \AA 分解能で回折することを確認することができた。トリプシン-BPTI複合体結晶は 2.0 \AA 分解能で回折し、23,822個の反射について回折強度データを得ることができた。この回折実験の詳細についてはActa Cryst. Fに投稿中である。

4. 結論・考察

トロンビン-ビバリルジン複合体では構造解析をおこなえる分解能の回折が得られなかった。これについてはさらに結晶を大きく成長させる必要がある。トリプシン-BPTI複合体結晶については、良好な回折強度データを得ることに成功し、現在、構造解析を進めている。

5. 引用(参照)文献等

Taro Yamada et al. (2008) Acta Cryst. A64, C236-237.