

無細胞タンパク質結晶エンジニアリングによる構造解析

(東工大生命理工学院¹) ○田中 潤子¹・安部 聡¹・金丸 周司¹・上野 隆史¹

Structural analysis by engineering cell-free protein crystals (¹*Graduate School of Life-Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*) ○Junko Tanaka¹, Satoshi Abe¹, Shuji Kanamaru¹, Takafumi Ueno

In recent years, “In-cell protein crystals,” spontaneously formed in a living cell, have attracted attention as new templates of solid materials. The development of X-ray structural analysis has made it possible to analyze the structure of micro- and sub-micro sized crystals.¹ However, the protein crystallization in living cells is dependent on the culture conditions, and it is difficult to control the crystallization. Therefore, the establishment of a new crystallization method is desired. In conventional crystallization *in vitro*, crystallization with additives is a general method to obtain crystals having a high diffraction quality. We focused on a cell-free protein synthesis system that is a cell-mimicking environment and enables the introduction of additives directly into the systems. In this study, we crystallized Crystalline inclusion protein A (CipA), which forms crystals in *P. luminescens*, using cell-free protein synthesis (Cell-Free Protein Crystallization, CFPC) and controlled the crystal packing by adding organic compounds or macromolecules (Figure 1). As a result, the structure of CipA was successfully determined by introducing additives.

Keywords : Protein Crystal, X-ray crystal structure analysis, Cell-free protein synthesis

近年、細胞内で自発的に形成するタンパク質結晶が新しい固体材料の鋳型として注目されている。さらに、X線構造解析法の発展によりマイクロやサブマイクロサイズの微小タンパク質結晶の構造解析が可能になって

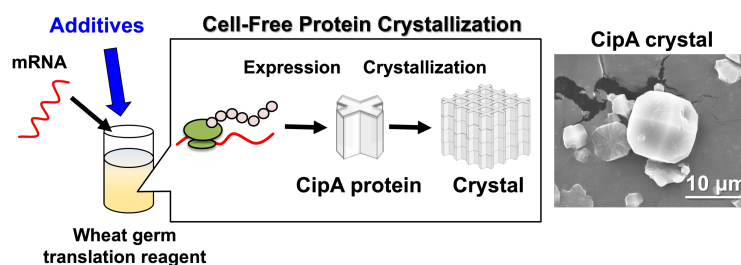


図 1. 無細胞タンパク質合成による CipA の結晶化

いる¹。しかし、培養細胞を用いたタンパク質の結晶化は、細胞の培養条件に大きく依存し、結晶化制御が困難であるため、新しい結晶化手法の開発が望まれている。従来の *In vitro* での結晶化では、回折品質の高い結晶を得るために、結晶化条件に添加剤を導入する手法が一般的に用いられている。そこで我々は、細胞模倣環境であり、合成反応溶液に直接添加剤の導入が可能な無細胞タンパク質合成系に着目した。本研究では、昆虫病原性細菌で結晶化する Crystalline inclusion protein A (CipA) の無細胞タンパク質合成系を利用した結晶化 (Cell-Free Protein Crystallization, CFPC) と有機化合物や高分子化合物を添加することによる結晶制御と構造解析を試みた (図 1)。その結果、添加剤を加えることにより、構造未知であった CipA の構造決定に成功した。

1. Schönherr, R., Rudolph, J. M. & Redecke, L. Protein crystallization in living cells. *Biol. Chem.* **399**, 751–772 (2018).