

修 士 論 文 の 和 文 要 旨

研究科・専攻	大学院 電気通信 学研究科 量子・物質工学 専攻 博士前期課程		
氏 名	山田 聖子	学籍番号	0733055
論 文 題 目	ウシ血清アルブミンの結晶学的研究		
<p>要 旨</p> <p>アルブミンは血漿中でもっとも豊富なタンパク質である。さまざまな物質と結合し、運搬する機能をもっているため、複合体の構造も数多く報告されている。当研究室ではこれまでに光学不活性な色素がヒト血清アルブミン(HSA)およびウシ血清アルブミン(BSA)と相互作用することにより光学活性となる現象、誘起円二色性(ICD)を示すことがわかっている。この機構を解明するためにアルブミン-色素複合体の構造解析を行うことを試みてきた。本研究では BSA の構造解析を行うために結晶化を行った。</p> <p>1. 沈殿剤、緩衝液、添加剤の選択</p> <p>BSA の結晶化はこれまで沈殿剤として PEG 3350、緩衝液としてリン酸緩衝液を使用してきたがこの条件での結晶化は困難であることがわかっていた。そこで、結晶化条件の見直しのためにスクリーニングキットを使って、結晶化を行った。スクリーニングキットはさまざまな沈殿剤、緩衝液、添加剤を組み合わせたものである。その結果から、沈殿剤として PEG 8000 を使用した。アルブミンは溶解度が高いため、これまで沈殿を生じるまでにかかなりの時間がかかっていたので、添加剤を添加することを考えた。塩類は溶解度の高いアルブミンには有効かもしれない。リン酸のカルシウムやマグネシウム塩は溶解度が低いため、リン酸緩衝液の代わりに酸性から中性域の MES を使用することにした。これらの沈殿剤と緩衝液を用いて、適した添加剤を調査した結果、塩化カルシウムが適していると判断した。</p> <p>2. 条件の最適化</p> <p>溶解度の高いアルブミンはこれまで 70 mg/ml 程度の濃度で結晶化されてきたが、PEG 8000、MES、塩化カルシウムを使用したこの濃度での結晶化では多量のクラスター状の結晶を生じたためより低濃度(10 mg/ml, 20 mg/ml)で結晶化を行った結果、これらの濃度でも結晶を生じた。しかし、生じた結晶はクラスター状だったので、これらを高濃度の沈殿剤に溶かし、すりつぶしたものを結晶の生じないドロップにシードするマイクロシーディングを行った。結晶は生じたがシードする際に沈殿を生じたので、沈殿剤に溶かさなくてもよいストリークシーディングを行った。その結果、いくつかの条件で結晶が得られた。</p>			
			
			Fig.1 BSA の結晶