

タンパク質結晶成長 WG 活動報告

塚本勝男 (東北大学大学院・理学研究科)

Report on Protein Crystal Growth Mechanism Working Group

Katsuo Tsukamoto

Tohoku University, Aramaki Aoba, Sendai, 980-3204 Japan

E-Mail: ktsuka@m.tohoku.ac.jp

Abstract: This working group aims to perform international collaboration on protein crystal growth mechanism studies in space with science groups in Europa. In order to perform in-situ observation of crystal growth in JEM, we have collaborated with the group in Spain and in Belgium on crystal growth mechanism analysis, the data of which was obtained from FOTON experiments and parabolic flights. Especially this year we spent a lot of time for the manufacturing crystal growth cells for in-situ observation of forthcoming JEM experiments.

Key words; Space experiment, International space station, protein, growth mechanism, in-situ observation

1. はじめに

本研究会は、タンパク質結晶の完全性が成長メカニズムにどう依存するかを多角的に調べることを目的とする。タンパク質結晶構造解析のために、結晶成長の知識が求められて久しい。結晶成長の分野におけるこの10年ほどの研究で、タンパク質結晶においても、他の無機結晶と成長の基本原理は同じであることが明らかにされてきた。そのため、タンパク質結晶の核形成・成長過程も、無機結晶と同様に、過飽和度の関数として同じ結晶成長理論で理解することができる。また、従来の結晶成長の研究手法、例えば、表面観察、拡散場の測定、等がタンパク質結晶においても重要な研究手段となる。

しかしながら、数100万あるとされるタンパク質のうち、結晶化に成功しているのは1%程度にすぎないのは、その結晶化のメカニズムが明確に理解されていないからである。これまでの研究を通して、無機結晶とタンパク質結晶の成長の仕方は多くの点で異なることも同時に明らかにされてきた。タンパク質結晶での過飽和度の定義、成長速度、欠陥の導入のされ方、欠陥の階層性などを無機結晶と同じ指標で比較すると、大きく異なる。一方、タンパク質結晶はコロイド結晶、フォトニック結晶などと共通のサイエンスがあることが明らかとなったのも、この10年間のタンパク質結晶成長研究の研究成果であらう。

2. 目的

このWGの活動の次の長期的目標を、今回のFOTON実験とする。また、国際協力によるJEM 溶液結晶化観察装置(SCOF)を用いた実験への応募も視野に入れる。図1にはWGメンバーを表にした。

2011 年度は、地上実験や航空機実験で条件

No.	氏名	所属	職位
1	塚本 勝男	東北大学	教授
2	小島 謙一	横浜市立大学	名誉教授
3	橋 勝	横浜市立大学	教授
4	佐崎 元	北海道大学	准教授
5	吉崎 泉	宇宙航空研究開発機構	主任研究員
6	円山美帆子	大阪大学	博士研究員
7	Garcia Ruiz	スペイン・グラナダ大学	教授
8	横山 悦郎	学習院大学	教授
9	和泉 研二	山口大学	教授
10	Elias Vlieg	オランダ・ナイメーヘン大学	教授
11	山崎智也	東北大学	大学院博士1年
12	福山誠二郎	エイ・イー・エス	研究員
13	三浦均	東北大学	助教
14	木村勇氣	東北大学	助教
15	Weichun Pan	ヒューストン大学	研究員
16	李超榮	浙江理工大学	教授

図 1 WG メンバー

での成長速度データを取得すると同時に、数値解析に必要なパラメータの取得も試みた。こ

の成果をもとに、欧州結晶成長グループと予定している次回の FOTON M3 衛星あるいは JEM 溶液結晶化観察装置 (SCOF) を用いた共同計画を詳細化する。この SCOF を用いた共同研究は、一昨年にベルギーで行った結晶成長トピカルチーム会合の主要なテーマでもあり、スペイン、ベルギーからの積極的な要望がある。

3. その場観察用セル製作の落とし穴

結晶成長のその場観察をしようすると、図2に示したような問題を解決する必要がある。一つ

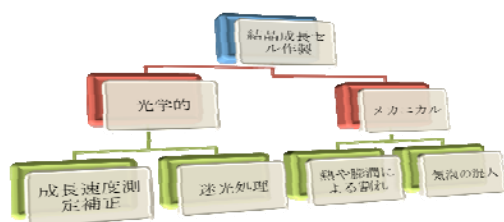


図2 結晶成長セルの問題点

は結晶成長時の温度変化によるセルの物理的なゆがみが誘発する光学的な問題。この問題については別途報告することにする。もう一つは、セルのメカニカルな強度に関わることである。



図3 割れた石英セル

その場観察用の結晶成長セルは 5〜40℃の温度変化に耐えることが必要で、それに対する備えは考えていた。しかし、意外な落とし穴があった。それは、図3の写真の中央部の黒いヘリサートである。この裏面に種結晶をはりつけて実験に託す。このヘリサートは樹脂ブロックから整形したものである。これを用いて石英セルにねじ込み 1 ヶ月放置した結果が図3である。3ミリの石英ガラスが割れている。

この予期せぬことに驚愕したが、原因は樹脂の吸水による膨張であることが分かった。つまり、

樹脂でも1%内外の水を吸収して周りの石英ガラスを柔らかく押し広げる。この応力がたまって強固な石英ガラスを破壊することが分かった。原因が分かったのでセラミックでヘリサートを製

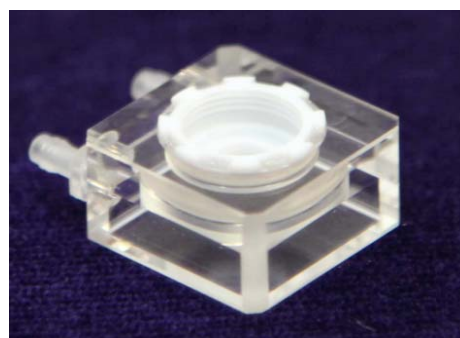


図4 セラミックヘリサートを使用したセル

作してこの問題は解決した、図4。

次の問題は気泡の混入である。これは地上実験でも良く経験することであり、接着不良やOリングの不正使用によるものであった。しかし、考え得る対策をしても、1〜3ヶ月の長期的スパンでは気泡の混入を防ぐことが出来なかった。



図5 ゴムチューブの蒸発テスト

問題は、温度変化による圧力変化を緩和するためのゴムチューブにあった。

よく知られているが、シリコンゴムは空気を通す。しかし、塩ビやテフロンチューブは安全と考

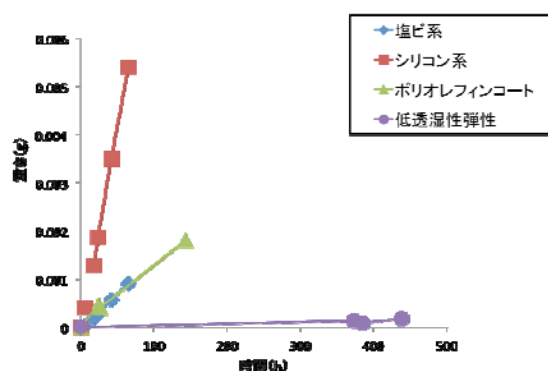


図6 チューブからの水の蒸発テスト

えられていた。ましてや、塩ビチューブなどにポリオレフィンコートをするれば万全と考えるのがこれまでの常識であった。

図5には、チューブに水を封入した写真をのせた。これらのチューブから時間とともに水がどれだけ蒸発するかを測った結果が図6である。シリコンチューブでは 100 時間に十数%の水が蒸発する！

タンパク質結晶では僅かな水の蒸発が致命的になる。例えば、水が 16%蒸発することで塩析剤の濃度 2.5%-3.0%になり結晶の溶解度は半分になる。つまり、溶液は極端な過飽和になって多数の結晶が析出してしまうことになる。

この問題は低透湿性弾性ゴムチューブを製作することで解決した。この特性は図に示されており、従来の数十分の1の水の蒸発量にすぎない。これによって、JEM 実験に耐えるその場観察セルが完成したことになる。

近年、諸外国でもタンパク質結晶成長“その場”観察実験が行われるようになってきている。しかし、これらの主要な実験は成功していないと聞いている。この原因の一つに、知らないうちにセル内で溶液がなくなってしまう、という初歩的な噂も聞く。今回報告したような単純な現象が原因と思われるが、その対策は非常に難しいといえる。例えば、気密性を保つ O リングさえ水や空気を通すのは明かである。しかしその対策は困難である。このような些細な共通な問題をも国際協力で解決し、将来の宇宙実験にもちあげていこうというのが、この WG 活動の趣旨である。