

インデンテーションによって導入されたタンパク質結晶中の転位の観察 Observation of stress-induced dislocations by indentation in protein crystals

鈴木凌^{1*}, 小泉晴比古², 小島謙一³, 橘勝¹

¹横浜市立大学, 〒236-0027 神奈川県横浜市金沢区瀬戸 22-2

²三重大学, 〒514-8507 三重県津市栗真町屋町 1577

³横浜創英大学, 〒226-0015 神奈川県横浜市緑区三保町 1

Ryo Suzuki¹, Haruhiko Koizumi², Kenichi Kojima³ and Masaru Tachibana^{1*}

¹Yokohama City University, 22-2 Seto, Kanazawa-ku, Yokohama, 236-0027, Japan

²Mie University, 1577 Kurimamachiya-cho, Tsu, 514-8507, Japan

³Yokohama Soei University, 1 Miho-cho, Midori-ku, Yokohama, 226-0015, Japan

1 はじめに

結晶材料の塑性に関する研究は、幅広い分野での応用が可能な金属結晶や半導体結晶が対象となっている。古くから行われている Si だけでなく、ワイドギャップ半導体材料の結晶欠陥の評価も重要視され、X 線トポグラフィによる転位のキャラクタリゼーションも半導体業界の発展に貢献している。一方、最近ではタンパク質分子から構成されているタンパク質結晶は、他の材料にはない類稀なる特性を有しており、次世代のバイオセンサーやバイオポーラス材料としての応用が提案されている[1]。しかしながら、タンパク質結晶を工学材料として考えた場合、その強度は弱く、脆く壊れやすいという最大の弱点がある。そして、その脆さを支配する塑性変形挙動に関する理解は乏しい。環境負荷の少ない材料開発が望まれている中、タンパク質結晶を材料として利用するためには、タンパク質結晶の塑性変形挙動を原理的に理解する必要がある。

X 線トポグラフィだけでなく電子顕微鏡などの技術が発達している一方で、これまでタンパク質結晶内の転位のふるまいを解明することが困難であった。それは、タンパク質結晶は欠陥が多く、高いモザイシティを有した品質の低い結晶が多かったためである。一方で、最近、我々は無転位のグルコースイソメラーゼ結晶 (GI 結晶) の作製に成功し、世界で初めてタンパク質結晶における X 線の動力的回折現象の観測に成功してきた[2]。このように、完全結晶とも呼ばれる半導体 Si と同等な品質を有するタンパク質結晶を用いることで、より本質的なタンパク質結晶の力学的性質を解明することが出来る。そこで本研究では、極めて高品質な GI 結晶を用いたインデンテーションを行った。結果として、無転位の結晶内に転位が誘起し、転位のキャラクタリゼーションに成功した。

2 実験

本測定で用いたグルコースイソメラーゼ (Glucose isomerase, GI) 結晶は種結晶から成長させる方法を用いて育成した。X 線トポグラフィ測定は PF の

BL20B で行った。カバーガラス上に育成された GI 結晶をアクリルホルダーにセットし、ポリエチレンフィルムで封をした。ゴニオメーター上にマウントした後、1.2 Å の単色 X 線を入射し、X 線フィルム (Agfa D2) を用いて様々な回折像の撮影を行った。

3 結果および考察

無転位 GI 結晶の(011)に対するインデンテーションにより、インデント領域から結晶内部に続く黒い線状コントラストが観察された。回折ベクトルが異なるとコントラストの消失が見られることから、これらは結晶欠陥の一つである転位由来のコントラストであると考えられる。転位の消失条件から、バーガースベクトルは少なくとも $\frac{1}{2}[111]$ (8.56 nm)、 $\frac{1}{2}[1\bar{1}\bar{1}]$ (8.56 nm)、 $[100]$ (9.39 nm)、 $[010]$ (9.96 nm) の 4 つであることが同定された。一般的に金属などの無機材料では長さが最短のバーガースベクトルが転位の運動を支配しているが、GI 結晶は様々なバーガースベクトルを有していることが明らかとなった。これはタンパク質結晶では様々なバーガースベクトルの転位が誘起されやすいことを示唆している。一方、多量の水を含み、巨大で複雑な形状を有するタンパク質分子から構成されたタンパク質結晶であっても、無機材料と同様なすべり変形で結晶の変形が支配されていることが明らかとなった。

4 まとめ

応力負荷による転位の発生やその増殖した様子の直接観察に初めて成功した。これまでタンパク質結晶は欠陥が多く完全性が低かったため、結晶内の転位の動的なふるまいを明確に観察することは極めて困難であった。しかしながら、欠陥の無い高品質なタンパク質結晶を用いることで、上述のような結晶の変形機構の解明など力学的性質の緻密な測定が可能となった。本研究成果はタンパク質結晶の実用化に向けた脆さの克服および高強度化に重要な知見を与える。

謝辞

本研究は、JSPS 科研費 (25420694, 16K06708) の助成を受けたものです。X 線トポグラフィ測定は KEK のフォトンファクトリー-BL-20B (Proposal Nos. 2014G601, 2015G142, 2017G087) にて行われました。

参考文献

- [1] S. Abe and T. Ueno, *RSC Adv.* **5**, 21366–21375 (2015).
- [2] R. Suzuki, H. Koizumi, K. Hirano, T. Kumasaka, K. Kojima and M. Tachibana, *PNAS* **115**, 3634–3639 (2018).

成果

1. Ryo Suzuki, Masaru Tachibana, Haruhiko Koizumi, Kenichi Kojima, “Direct observation of stress-induced dislocations in protein crystals by synchrotron X-ray topography”. *Acta Mater.* **156**, 479–485 (2018).

* rsuzuki@yokohama-cu.ac.jp