

微小重力下で異種タンパク質共存の下成長したグルコースイソメラーゼ結晶 の結晶品質評価

Characterization of glucose isomerase crystals grown under microgravity conditions with impurity proteins

鈴木良尚^{1,*}

¹徳島大学大学院社会産業理工学研究部

〒770-8506 徳島県徳島市南常三島町 2-1

Yoshihisa Suzuki^{1,*}

¹Graduate School of Technology, Industrial and Social Sciences,
Tokushima University,

2-1 Minamijosanjima, Tokushima 770-8506, Japan

1 はじめに

微小重力下でタンパク質を結晶化すると、地上で作るよりも高品質なものができるという話があり、実際に宇宙で作った結晶の 20%は地上でのチャンピオンデータよりも高品質なものになるという話が 2000 年に NASA によって明らかにされた[1]。それ以降国際宇宙ステーション (ISS) 等でのタンパク質結晶化が盛んに行われている。

しかし、なぜそのようなことが起こるのかについては最終的な結論は得られていない。対流が抑制されることで、物質輸送が拡散のみになり、それによってゆっくり成長するからきれいな結晶ができるという通説があったが、2007 年に Tsukamoto らがロシアの回収衛星 Foton-M3 で、リゾチーム正方晶系 (tHEWL) 結晶の成長速度が微小重力下で速かったことを示し[2]、2012 年に Tsukamoto による ISS きぼう利用実験 NanoStep ミッション (著者らも参加) によって、過飽和度の関数として tHEWL 結晶のステップ前進速度を測定したところ、結晶構成分子よりも大きい不純物が存在している状態では、宇宙の方が速く成長できることが明らかになった[3]。しかし、小さい不純物の場合も明らかにしないと、正確な結論には辿り着けない。

2013 年以降、著者 PI の新たなテーマとして、実験対象をグルコースイソメラーゼ (GI) 結晶に変え、その成長単位である GI 4 量体よりも小さいタンパク質を不純物とした実験をスタートした。そして 2017 年以降、ISS きぼう利用実験 Advanced Nano Step ミッションが始まった。2022G613 ではその 4 回目のフライトで、ヘモグロビン (Hb) 共存下において成長した GI 結晶を回収し、その結晶品質評価を行うことを目的とした。しかし、米国における輸送体制に問題があり、日本への輸送が大幅に遅れてしまい、結局 2022 年度内には結晶品質評価の実験を行うことはできなかった。そのため、今回は 2023 年 5 月に実施された実験結果について、Preliminary な結果のみを示すにとどめる。

2 実験

回収結晶は、以下のような過程で成長してきた結晶である。

- (1) 化学固定 GI 結晶を{110}面を上面に結晶座面より 3 度傾けて接着
- (2) 化学固定 GI 結晶上に GI 結晶を再成長
- (3) 高純度 GI 溶液+高純度 Hb 溶液を用意
- (4) 結晶表面が高純度 GI で覆われる程度に大きくなる
- (5) ISS に向け打ち上げ
- (6) 軌道上で、{110}面上のスパイラル成長丘をその場観察
- (7) クルーと共に米国西海岸沖の太平洋上に着水
- (8) JAXA 筑波宇宙センターに輸送

太字の部分が微小重力下で結晶成長が行われる部分になる。その部分は図 1 の 2 つの白線で示された GI 結晶の外形に挟まれた部分 (S) であり、それより内側と外側は地上で成長した部分 (G) である。それぞれの領域内で 1° の振動写真を撮影し、iMosflm を使って、1 枚の写真から Mosaicity など評価し、比較することとした。

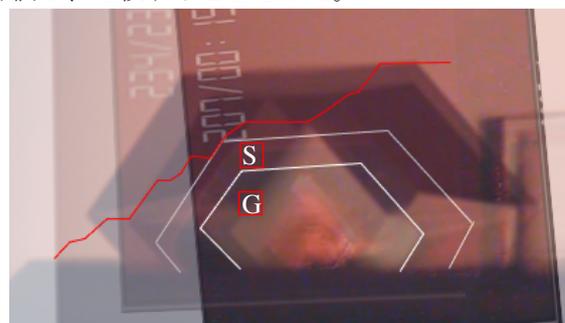


図 1 : 振動写真で使用した回収結晶 (実際は写真で示されるようなきれいな結晶の状態ではなかったが、結晶台座ごと Kapton チューブで密閉する作業で結晶の一部を破損してしまい、実際には赤線で示したような状態になった)

3 結果および考察

図 1 に ISS 実験後の回収結晶の写真を示した。実際は写真で示されるようなきれいな結晶の状態ではなかったが、回収結晶を PF で品質評価するために行われた、結晶台座ごと Kapton チューブで密閉する作業で結晶の一部を破損してしまい、実際には赤線で示したような状態になってしまった。しかし、幸いなことに ISS 上で成長した部分はいま破損を免れていたため、結晶の隅々まで細かく分割して 1° 振りの振動写真を撮影した。図 1 に示された領域 S (宇宙で成長した部分) と G (地上で成長した部分) で撮影された振動写真から Mosaicity を算出したところ、S では 0.15°、G では 0.10° となり、地上で成長した方が高品質という結果になった。

4 まとめ

まだ解析がスタートしたばかりで、より詳細な解析が必要な段階ではあるが、小さな不純物が共存する場合、宇宙で成長した方が不純物の分配が大きくなり、その結果格子欠陥の導入が大きくなって品質が劣化するという予想に沿った結果が得られた。

謝辞

PF BL-5A の松垣直宏先生には、ビームタイムの確保に際し、こちらの突然の予定変更にも柔軟に、大変丁寧にご対応戴きました。また、5/15 のビームタイムでも、素人質問で大変ご迷惑をおかけしたはずですが、丁寧にわかりやすくご説明いただき大変助かりました。改めてここに感謝致します。

参考文献

- [1] Task Group for the Evaluation of NASA's Biotechnology Facility for the International Space Station. In *Future Biotechnology Research on the International Space Station*; Space Studies Board, National Research Council, Eds.; The National Academic Press: Washington, DC, 2000; Chapter 1, p 13. T. Tsukuba *et al.*, PF Highlights 2017, 12 (2020).
- [2] K. Tsukamoto *et al.*, *J. Cryst. Growth* **603**, 127016 (2023).
- [3] Y. Suzuki *et al.*, *Cryst. Growth Des.* **15**, 4787 (2015).
- [4] I. Oho and S. Sakura, *Phys. Rev. Lett.* **120**, 10101 (2021).

* yoshis@tokushima-u.ac.jp