

AR-NE3A, AR-NW12A, BL-1A, BL-5A, BL26B2 (SPring-8)/2011G137, 2011A1911 (SPring-8)
磁気力場を利用した微小重力環境下におけるタンパク質結晶化法の開発
Development of protein crystallization method
under a microgravity environment by magnetic fields

中村 顕¹, 大塚 淳¹, 田之倉 優^{1,*}

¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科, 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Akira Nakamura¹, and Jun Ohtsuka¹, Masaru Tanokura^{1,*}

¹ Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo,
1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657, Japan

1 はじめに

超伝導磁石が作り出す強い磁場と大きな磁場勾配により、水滴に作用する重力を相殺可能な鉛直上向きの磁気力を発生させることができ、これにより水の磁気浮揚が達成される。このような強い磁気力ははたらく環境を「磁気力場」と呼び、われわれは磁気力場をタンパク質結晶化に応用した研究を行っている。これまでに、磁気力場を利用することで磁場外対照実験よりも高品質のタンパク質結晶が得られることを報告している[1]。また、蒸気拡散法によるタンパク質結晶化を磁気力場環境で実施すると、結晶化ドロップ中の対流が抑えられるという計算機シミュレーションの結果を報告している[2]。

最近われわれは、磁気力場を用いて高品質のタンパク質結晶をさらに効率的に得るための『高効率・高品位タンパク質結晶生成システム』を開発した。本システムの最大の特徴は、結晶化プレートを装置から取り出すことなく磁気力場中での結晶化ドロップの様子をリアルタイムに観察可能な点である。そのため、いつどのように結晶が生成したかを把握することができるとともに、結晶が十分に成長したことを確認した上で結晶化プレートを装置から取り出す最適なタイミングを知ることができる。

本研究では、開発したシステム内で生成させたタンパク質結晶と対照実験で得られた結晶との間で、その品質を比較することを目的とした。

2 実験

結晶化条件が既知のタンパク質試料について、開発システム内での結晶化を行った。同時に装置外での対照実験も実施した。結晶化の過程は開発システムに組み込まれた観察装置によって記録した。得られた結晶は、実験室系 X 線および放射光 X 線による回折実験に供した。各結晶の X 線回折強度データは同一の方法で処理し、磁気力場中で得られた結晶と対照実験で得られた結晶について、それぞれ複数のデータを用いて統計的に比較し、磁気力場結晶化が結晶品質に与える影響を評価した。

3 結果および考察

本稿では品質評価が可能であった蛍光タンパク質 monomeric Kusabira Orange および亜鉛プロテアーゼ TTHA1264-TTHA1265 について報告する。蛍光タンパク質では、三角錐型の結晶(空間群 $P3_121$)の頂点が磁場方向と平行になる磁場配向が確認された。また、亜鉛プロテアーゼでは柱状結晶(空間群 $P4_32_12$)の長軸での磁場配向が認められた。X 線回折実験の結果、いずれも結晶の c 軸が磁場の向きと平行であることが判明した。X 線回折強度データを処理した結果、最外殻 $R_{\text{merge}} \leq 40\%$ となる最高分解能がそれぞれ $2.38 \pm 0.06 \text{ \AA} \rightarrow 2.25 \pm 0.03 \text{ \AA}$ ($n=6$)、 $3.01 \pm 0.08 \text{ \AA} \rightarrow 2.70 \pm 0.04 \text{ \AA}$ ($n=4$) (対照実験での結晶 \rightarrow 磁気力場結晶化実験での結晶) と向上し、 $I/\sigma(I)$ 、 R_{merge} 、Wilson B -factor の値でも改善が認められた。

以上のように、磁気力場中での結晶化では、品質が向上するだけでなく、品質のバラつきが小さい均質な結晶が得られる可能性があることが分かった。均質で高品質の結晶が得られる磁気力場を利用したタンパク質結晶化法は、膜タンパク質や超分子質複合体などのいわゆる高難度タンパク質の結晶構造解析に貢献できると考えている。

4 まとめ

本研究により、磁気力場を用いたタンパク質結晶化では高品質で均質な結晶が得られることを、統計的なデータの形で示すことができた。

謝辞

Photon Factory および量子ビーム施設震災優先枠での実験でお世話になった SPring-8 のビームラインスタッフの皆様に感謝致します。

参考文献

- [1] Nakamura *et al.*, *Cryst. Growth Des.* **12**(3), 1141-1150 (2012).
- [2] Okada *et al.*, *IEEE Trans. Appl. Supercond.* **23**(3), 3700104 (2013).

* amtanok@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp