

# 結晶化スクリーニングのスピードアップに有効な 観察方法「すぐ見る法」 “Immediate observation method” for the initial-crystallization screening

千田美紀<sup>1</sup>、千田俊哉<sup>2</sup>

1 バイオ産業情報化コンソーシアム、2 産業技術総合研究所

結晶化ロボットやスクリーニングキットの発達により、何百種類もの条件についてスクリーニングを行い、結晶が得られる条件をダイレクトに見つけるハイスループットスクリーニングがよく用いられるようになった。しかし、たくさんの条件を試したからといってその中から結晶が得られる条件がダイレクトに見つかるとは限らない。そのような場合には、クラシックな方法ではあるがタンパク質溶液と結晶化溶液を混合した時に生じる沈殿の様子を注意深く観察することで結晶が出そうな条件を予測しながらスクリーニングを進めていくことも有効である。結晶が得られる条件でタンパク質溶液と沈殿剤を混合した時に生じる沈殿は可逆的に溶解することが多く、タンパク質溶液と沈殿剤を混合した直後に急激に沈殿剤濃度が上がることにより生じた沈殿は時間の経過に伴い溶けてしまうと考えられる。結晶が得られる兆候であるこの沈殿やその後の変化の様子を見逃さないためには、タンパク質溶液と結晶化溶液を混合した直後からドロップレットの変化を観察することが重要である。実際に、我々が結晶化条件を決定した TAF-I $\beta$ 、BphA3-BphA4 複合体、BphA3(還元型)、DDO、chDSD についてタンパク質溶液と結晶化溶液を混合した直後にドロップレットを観察した結果、結晶化直後には沈殿が確認できたが、数分後には沈殿が消え、はじめから沈殿がなかったものと見分けがつかなくなっていた。そのため、初期スクリーニングの際のドロップレットの観察は結晶化直後から行うことにし、「すぐ見る法」と呼ぶことにした。

「すぐ見る法」は初期スクリーニングで結晶化条件を探索するためだけではなく結晶化の再現性を上げるためにも使うことができる。特に TAF-I $\beta$ の結晶化ではタンパク質サンプルのロットにより微妙に異なる適切な沈殿剤濃度を見極めて再現性良く大きな結晶を得るために、また chDSD の結晶化では沈殿剤として用いている PEG4000 のロットを評価するために有効であった。結晶が得られる場合には、結晶化直後に生じた沈殿が消失するまでの時間スケールがほぼ同じであったため、結晶化直後からドロップレットの様子の変化を観察することは、結晶化の再現性を上げるためにも有効であると考えている。