

フォトンM3衛星を使ったタンパク質結晶成長速度測定

塚本 勝男(東北大・理)佐崎 元 (北大・低温研) 小島 謙一、橘 勝(横浜市大・理工)

吉崎 泉(JAXA)

Growth rate of protein crystals using FOTON-M3 satellite

K. Tsukamoto: Tohoku University, G. Sazaki: Hokkaido University, K. Kojima and M. Tachibana: Yokohama City University, I. Yoshizaki: JAXA E-mail: ktsuka@m.tains.tohoku.ac.jp

Growth rate of lysozyme crystals has been measured for the first time under microgravity by growing seed crystals. Unexpectedly growth rate under microgravity was the same as that under gravity or even larger under gravity. Precise growth rate of lysozyme crystals under microgravity has successfully been measured for the first time using a Russian Foton-M3 satellite in September 2007. The growth rate was obtained by measuring the thickness increase of seed crystals during the microgravity duration, 12 days, after the transportation of growth cells from ESTEC, The Netherlands, to Baikonur, Russia. All growth cells were kept at 20°C after preparation of the seed crystals. The growth patterns at various stage of microgravity and gravity experiments in the same crystals overgrown on the seeds were also been observed for the first time by laser confocal microscopy after the flight. The shape of growth step patterns was used to analyze the effect of impurity on the growth of crystals. Some of space grown crystals were examined also by synchrotron x-ray topography at KEK in Tsukuba, after all optical observations were completed. This was needed to analyze the origin of defects in crystals in relation to the growth mechanism of the crystals. More than 50 seed crystals have been selected for the microgravity experiments. These seeds in various concentrations of lysozyme (98.5% purity) were sealed in glass tubes, $\phi=3\text{mm}$, which enabled us to grow the seed crystals at constant temperature, 20°C and thus at known initial supersaturation. After seeding on the ground, the seed crystals continued to grow under 1G and then under μG after launch. Because of the change of growth conditions during the experiment, the refractive index of the crystals slightly changed and thus growth striations are visible, fig.1, if the growth interface is viewed from the side of the crystal parallel to the optical axis of the confocal microscopy. It was surprising to see that the growth rates under both gravity levels were equal or even larger under μG than under 1G. This was interpreted based on the coupling effects of largely reduced impurity concentrations at the surface and the less reduced growth rate of crystals in space.

微小重力での結晶成長は重力下に比べると遅いと潜在的に考えられている。しかし、結晶成長速度の測定例はない。これまでタンパク質結晶成長実験は

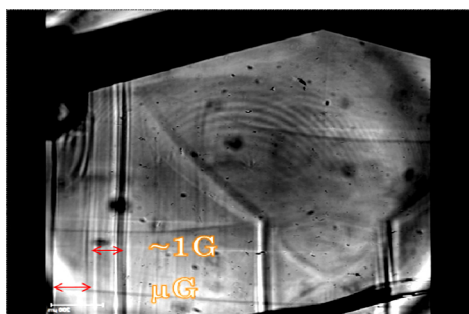


fig. 1 Growth striations showing the grown parts under 1G and μG on a seed crystal. 2mm, left to right of the crystal.

膨大な数にのぼる。それにも関わらず、結晶成長速

度が求められていないのは、結晶を作れば良いという考えがベースにある。しかし、今後、他の多くのタンパク結晶の完全性と結晶成長メカニズムの関連を明らかにしようとするならば、成長速度の理解はメカニズム解明の観点から不可欠である。

ここでは簡単な実験装置で結晶成長実験を行うために、フォトン M3 回収型衛星を用いて、12日間の無重力実験を行った。速度を測るために初めて種結晶

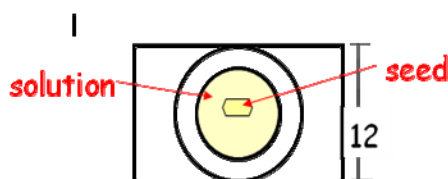


fig. 2 growth cell for surface observation.

をもちいて成長させ、回収後直ちに結晶内部の成長縞を共焦点顕微鏡で詳細に観察して結晶成長量を測定した。これらの結晶は2日後につくばに送られ、KEKでX線トポグラフ像を取得し内部欠陥の観察を行った。その後、SPRING-8でピクセル毎のロッキングカーブを取得し、結晶の完全性の2次元分布の評価を行い結晶成長環境による完全性の評価を行いつつある。

50余りの種結晶をfig.2のフラットセルと3mmφのガラスチューブに溶液と共に封入し実験に使用した。その後、実験が終了するまで環境温度は20℃に保持した。

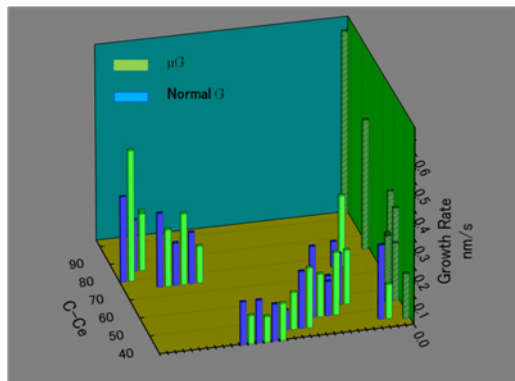


fig. 3 Growth rate vs supersaturation under 1G and μ G. The neighboring data in blue and green are obtained from the same seed crystals.

結晶成長速度の測定は成功裏の内に終了したが、驚くべき結果であった。微小重力での結晶成長は地上での速度とあまり変わらないか、むしろ50%程度早くなることが分かった、fig.3。

何故、成長速度が速くなるかについて、地上実験の結果と併せて解析を行っている。その骨子は次の通り。

- (1) 成長表面の2次元島の形状は不純物の存在により大きく変わる、fig.4。99.99%の超高純度のタンパク溶液からは左のようなシャープな単分子の厚みをもつ2次元島が成長する。しかし、98.5%の純度からは右のような円い2次元島が見られる[1][2]。今回の宇宙実験では98.5%の純度のリゾチーム溶液を使用した。そのため、円い2次元島

が見られることが予想された。しかし今回の宇宙実験で得られた結晶内部を共焦点顕微鏡で2次元島を観察すると、高純度で成長したかのようにシャープな2次元島が現れた。

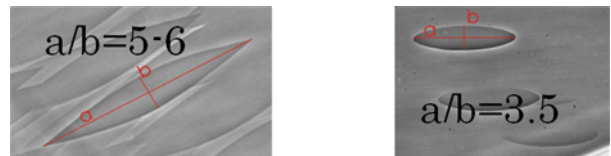


fig. 4 2D islands growing in ultra-pure solution, left, and in normal solution, right.

- (2) 結晶の成長速度は最大5割ほど速くなるのが確認された。これは、超高純度の溶液から成長したときに増加する成長速度である。

これらの結果から総合的に考察すると、宇宙環境では、不純物、この場合はダイマーであるが、の結晶表面への到着が抑制された状態が、微小重力での結晶成長であると結論できる。これは、ダイマーのサイズが単分子より大きいため、無重力で単分子の拡散より相対的に遅くなって、不純物効果が減少したためと結論できる。

引用文献

- [1] Step velocity in tetragonal lysozyme growth as a function of impurity concentration and mass transport conditions. *P. DoldOno, K. Tsukamoto, G. Sasaki*. 2006年, J. Crystal Growth, 102-109.
- [2] Comparison of Different Experimental Techniques for the Measurement of Crystal Growth Kinetics. *Alexander E. S. Van Driessche Fermin Otalora, Gen Sasaki*. Crystal Growth and Design, January 21, 2009年. 4316-4323