

ISS・きぼう利用ミッション  
「微小重力における溶液からのタンパク質結晶の  
成長機構と完全性に関するその場観察による研究  
(NanoStep)」  
研究成果概要書

代表研究者: 塚本勝男(東北大学大学院理学研究科)

平成 29 年 2 月

宇宙でタンパク質結晶をつくると、20%以上の結晶の完全性が良くなり、X線回折において高分解な解析できると言われて久しい。結晶の完全性は結晶が成長してきた履歴の反映であるので、“なぜ”地上に比べ良いのかを知るには、その成長メカニズムの違いを明らかにする必要がある。これまでの研究では、宇宙で作られた結晶を地上に回収してX線回折で統計的に良い条件を探す方法が国際的にとられてきた方法である。それに対して本研究では、成長メカニズムと結晶の完全性は密接に関係することに注

目して、宇宙で結晶が成長しているところを直接“その場”観察して成長速度から結晶成長メカニズムを調べる方法をとった。そのために、メカニズムを忠実に反映する成長速度の過飽和度依存性を幅広い条件で調べることにした。

このレーザー干渉計による光学的な結晶の“その場”観察による研究は、本研究代表者が得意とする方法である。ただ、地上と宇宙での違いを明らかにするには、JEM内でも地上と同じ精度で測定する必要がある。できれば、地上での最高レベルの分解能の速度測定( $10^{-3}$ nm/s)と匹敵できることが大前提である。そのために、振動に弱い干渉計と供試体部であるが、様々な工夫をしな

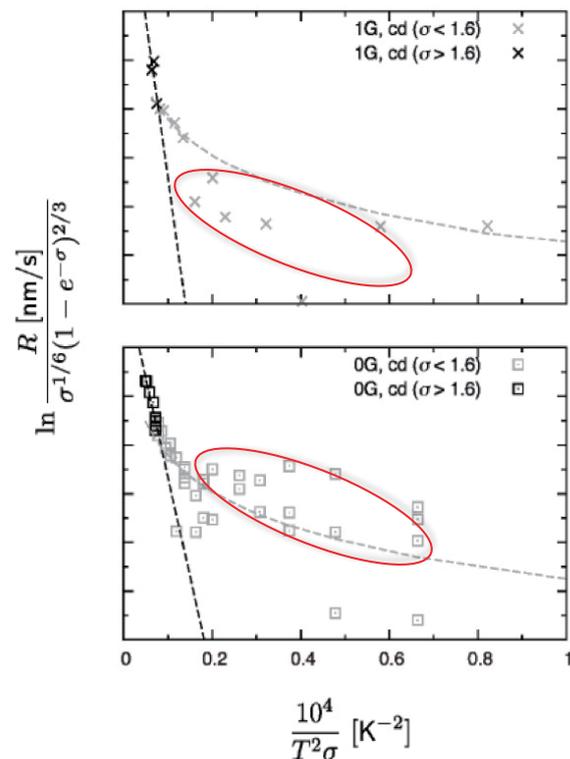


図 1 成長速度の過飽和度依存性。1G(上)と $\mu$ G(下)の比較。 $\sigma$ :過飽和度、R:成長速度。

から宇宙実験用に完成させた。一方、数 T バイトの干渉縞データがリアルタイムにダウンロードされるが、この巨大なデータの処理のために、干渉縞データの任意の場所（点、ライン、エリア）からリアルタイムに速度データとして解析できるソフトを新たに開発した。このように、“その場”観察、“かつ、その場”解析を標語に4ヶ月余の実験は初期の計画以上の成功を収めた。

まず特筆すべき成果は、リゾチーム結晶成長速度の測定である。従来、「微小重力では対流や流れが抑制されるから結晶はゆっくり成長する。その結果、完全性の高い結晶が得られる」と言われていた。しかし、実際に詳しく測定してみると、微小重力でのほうが結晶は速く成長し、従来の定説が完全に覆った（図1）。

成長速度の過飽和度依性より成長メカニズムを解析すると、重力下でみられる不純物粒子を核とする不均質核形成 (Heterogeneous 2D nucleation) が宇宙ではほぼ抑制されることが分かった（図2）。そのため微細欠陥の発生が少ない“らせん成長”領域が微小重力ではかなり拡大されることが分かった。これは少量の溶液から結晶をつくらなければならないタンパク質結晶成長にとって非常に有利である。

一方、流れがない微小重力では、結晶近傍の濃度分布の不均質性が大きくなることが予想されていた。しかし、CT法を新たに開発し3次元濃度分布を重力下と微小重力下で比較したところ、重力下では結晶の端より中央部は過飽和度が26%も減少するが、微小重力では2.6%しか減少しない、つまり、微小重力のほうが結晶表面にそった過飽和度はより均質であることが分かった。従って、中央部が凹む骸晶になりにくく完全性も良くなる。

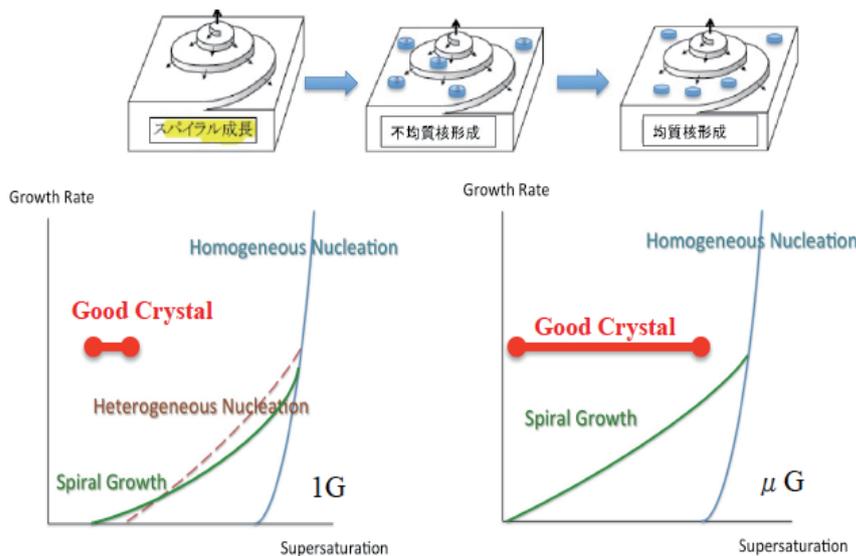


図 2 成長メカニズムの比較。μG のほうが微細欠陥の発生しにくいらせん成長領域ははるかに広い。よって、わずかな溶液から成長させるタンパク質結晶成長に有利。

完全性も良くなる。ただ、中性子回折用のさらに大きな結晶を成長させるときには微小重力でもこの過飽和度低下が大きくなるので、強制流れで結晶形態の不安定性を押さえ込むべきであろう。