

微小重力を利用した酵素の結晶成長

代表研究者： 森田雄平（不二製油株式会社）
協同研究者： 相原茂夫（京都大学食糧科学研究所）
三上文三（京都大学食糧科学研究所）
Charles E. Bugg（University of Alabama at Birmingham）

要旨

本研究ではスペースシャトル”エンデバー”（STS-47）を利用してニワトリ卵白リゾチーム、ウマ骨格筋ミオグロビン、緑膿菌 ω -アミノ酸:ピルビン酸アミノ基転移酵素、クモノスカビのリパーゼ、及びヒトのインシュリンの5種類のタンパク質または酵素について微小重力下、20℃で6種のタンパク質結晶化に関する宇宙実験を実施した。結晶化方法は静置バッチ法を採用し、この原理に基づいて、宇宙実験装置として密閉系のポリカーボネート製酵素結晶化容器を製作した。6種のタンパク質試料のうち、インシュリン以外の5種の試料について結晶が得られ、そのうち4種の試料が単結晶であった。リゾチーム（pH4.5）と ω -アミノ酸:ピルビン酸アミノ基転移酵素は結晶学的に良質の大きな単結晶に成長し、筑波の高エネルギー物理学研究所の放射光実験施設（PF）のシンクロトロン放射光を利用してX線結晶学的解析を実施した。

序論

タンパク質の三次構造に関する知見は酵素反応機構の解析や蛋白質工学によるタンパク質の機能改変等の研究を推進する上で必須の情報であり、近年、X線結晶学的に精密化された精度の高い構造モデルが要求されるようになった。しかし、X線結晶構造解析の研究は結晶学的に良質の単結晶が調製されることで初めて成立し、しかも、タンパク質の三次構造の精度は単結晶のX線回折実験によって収集された反射データの精度に依存する。この意味において、タンパク質の単結晶調製に関する方法と実用的な成長理論の確立は重要な意義を持ち、タンパク質の結晶化は、単に、単結晶を調製するのではなく、高分解能での精密解析を行うために必要な良質の単結晶を調製を目指すことが要求される。

タンパク質の立体構造を正確に決定するためには結晶性（結晶内のタンパク質分子の配列の程度）の良い大きな単結晶を調製する必要がある。しかし、タ

タンパク質の特性が個々に異なるため、タンパク質の単結晶を調製する普遍的な理論はなく、しかも、1 gの環境下ではタンパク質結晶は成長の途中で重力により沈降し、重なり合って形の良い結晶が得にくい[1]。現在、タンパク質の単結晶調製は、本研究分野のボトルネックとなっている。

一方、宇宙の微小重力環境ではタンパク質の結晶核が沈降せず、溶液中であまり動かないで成長するので、良質のタンパク質単結晶が得やすい[2,3]。1983年フライブルク大学のLitkeは初めてスペースシャトルを利用して卵白リゾチームと大腸菌K12/3300の β -ガラクトシダーゼの宇宙の微小重力下で結晶化実験を行い、地上よりも大きな結晶を得ることに成功した[4]。また、アラバマ大学のBuggとDeLucasのグループは1985年以降、スペースシャトルでの計画的なタンパク質結晶化に関する宇宙実験を実施し、成果を挙げている[5]。タンパク質単結晶成長に対する宇宙の微小重力の影響が明らかになるに従って、良質の単結晶を調製するため、結晶化容器の広範な改善や独創的な装置の開発が積極的に行われるようになった。宇宙環境で成長した良質の単結晶を利用することによって本研究分野における先端科学技術の進展に寄与するとともに関連分野の基礎研究の飛躍的進展を促し、波及効果として医薬や食品素材開発などの実用研究の成果が注目されている。

本研究では6種類のタンパク質について結晶化実験を実施し、地上での結晶化実験との比較においてタンパク質結晶成長に対する宇宙の微小重力の影響を解析、評価することを目的とした。

実験試料及び方法

[1] 実験試料

タンパク質試料として学術的、実用的観点から価値がある5種類の酵素・タンパク質（ニワトリ卵白リゾチーム、ウマ骨格筋ミオグロビン、緑膿菌 ω -アミノ酸:ピルビン酸アミノ基転移酵素、クモノスカビのリパーゼ、及びヒトインシュリン）を選定し、以下に記す。

ニワトリ卵白 リゾチーム

リゾチームはバクテリアの細胞壁を構成する基本的な構成要素であるN-アセチルムラミン酸とN-アセチルグルコサミンの間の β -1, 4グルコシド結合の加水分解を触媒する酵素である。本酵素は結晶化し易いタンパク質の1つで、結晶化条件によって数種類の結晶系の異なる単結晶が報告されている[6]。本宇宙実験では本酵素で知られている結晶形のうち正方晶と単斜晶の2種の結晶について結晶化した。

ウマ骨格筋ミオグロビン

ミオグロビンは骨格筋細胞に見出される機能タンパク質である。クジラ、アザラシ、セイウチなどの水生哺乳類に特に豊富に含まれている。本タンパク質は酸素を貯蔵するだけでなく、細胞全体にわたって酸素の拡散速度を高める働きをしている。学術的な見地と安価であることなどからウマ骨格筋のミオグロビンを試料として選定した[7]。

緑膿菌 ω -アミノ酸:ピルビン酸アミノ基転移酵素

ω アミノ酸:ピルビン酸アミノトランスフェラーゼはピリドキサル5'-リン酸を補酵素として ω アミノ酸の ω 位のアミノ基をアミノ基受容体に可逆的に転移する反応に関与している。本酵素はピルビン酸を唯一のアミノ基受容体とし、種々の ω アミノ酸の中で β -アラニンを最も良いアミノ基供与体として利用する。本酵素はまたX線結晶学的に良質の斜方晶を容易に結晶化することができ、高分解能でのX線結晶構造解析が進んでいる[8]。

クモノスカビのリパーゼ

リパーゼは脂質の加水分解を触媒する酵素である。最近、本酵素のエステル合成、エステル交換反応などの機能が工業的利用の観点から注目されている[9]。クモノスカビのリパーゼはエステル交換反応の活性が高く、特に、トリアシルグリセロールの1,3位に対する特異性によって本酵素の実用面での利用度が増大している。

ヒトインシュリン

インシュリンは膵臓ランゲルハンス島のB細胞から分泌されるポリペプチドホルモンで、全ての間接代謝に関係するが、特に、肝臓の脂肪組織や筋肉の間接代謝に影響を与える。インシュリンは血中のグルコース濃度を低下させる唯一のホルモンであり、炭水化物代謝の制御に関係している。本タンパク質は既に宇宙実験STS-57の試料として、またウシ由来のインシュリンがSTS-37, STS-43, STS-49の3回の宇宙実験の試料として利用されており、VDA（蒸気拡散ハンギングドロップ法による結晶化装置）や大型温度勾配結晶化装置などの装置が使用されている[10]。今回は結晶成長の装置間の比較が主要な目的である。

[2] 実験方法

・酵素結晶化容器

構造と特徴

酵素結晶化容器（写真1）は本実験のために設計・製作されたポリカーボネ

ート製の密閉系容器で、静置バッチ法の原理に基づいて開発された。本装置は宇宙実験のために開発された装置の1つで、3つの部分から構成される[1]。即ち、中央の写真撮影部と両端のピストン・シリンダー部であり、後者は酵素溶液と沈澱剤溶液を混合する役割を持ち、また、前者は写真撮影装置接合部として設計されていて、晶出した結晶を撮影する部分である(図1 a)。酵素結晶化容器は溶液漏出防止用バッグに入れて、6個1組でアルミニウム製の容器に収納され、酵素結晶化キットと称す(写真2)。

本装置の特徴は、密閉系でピストンを利用してタンパク質溶液と沈澱剤溶液を混合するため、2液を完全に混合することができることにある。また、短期間の宇宙実験において地上予備実験の結果を最も反映し易いように、本装置は、これら2種の溶液を混合することによって直ちにタンパク質濃度を過飽和状態にし、系を結晶化条件にすることができる。従って、結晶成長速度に対する宇宙の微小重力の影響、言い換えれば、微小重力場と重力場の間の拡散速度の違いを、最も単純に比較することができる。

試料溶液の充填法と操作法

最初に、酵素結晶化容器の中央部にタンパク質溶液を気泡が入らないように充填する。気泡が生じた場合は、これを完全に除去した後、中央部と右側シリンダー部を隔てているバルブの穴にもタンパク質溶液を満たした状態でバルブを閉じる。次に、緩衝液で右側シリンダー内に溢れたタンパク質溶液を洗い流した後、沈澱剤溶液を充填する。最後に、右側シリンダー内の泡を完全に除去してから右側ピストンの穴を密栓する(図1 b)。

宇宙実験の開始は、スペースシャトルが宇宙の微小重力環境に到達した後、バルブを開いて容器の両端にあるピストンを操作し、中央部のタンパク質溶液と右側シリンダーにある沈澱剤溶液を混合する。混合した後は再びバルブを閉じる。混合溶液は、予め地上予備実験で決定した結晶化条件の過飽和溶液となり、タンパク質の結晶化が始まる(図1 c)。

・写真撮影装置

写真撮影装置はニコン社製の35mmカメラと支柱で構成され(写真3)、コダック社製フィルム(Kodacolor,35mm,ASA200,36exp)を使用した。

・X線回折実験

X線回折実験は高エネルギー物理学研究所放射光実験施設(BL6A2)の放射光をX線源とし、2次元ディテクターとして機能する富士イメージングプレート(IP:200mm x 400mm)を装備した巨大分子用ワイセンベルグカメラにより反射

データを収集した[11]。また、X線回折実験中、空気によるX線の吸収や散乱によるバックグラウンドの上昇を抑えるためにIP装着用カセットにヘリウムを通気した。反射データの読み取りは富士BA100読み取りシステムでIPを処理し、磁気テープに格納した。データのプロセッシングはWEISプログラムシステムを利用した[12]。

読み取り条件： pixel size, 0.1mm x 0.1mm; dynamic range, 10^4 ; sensitivity, 10,000

実験結果

○地上予備実験

地上予備実験の目的は宇宙実験に用いる6種類の試料の選定と結晶化条件の決定である。そこで、卵白リゾチーム、オボトランスフェリン、クジラ及びウマ骨格筋のミオグロビン、ダイズ及びサツマイモの β -アミラーゼ、クモノスカビのグルコアミラーゼとリパーゼ、西洋ワサビ及びネナガノヒトヨタケのパーオキシダーゼ、ヒト白血球のミエロパーオキシダーゼ、緑膿菌の ω -アミノトランスフェラーゼの12種類の酵素タンパク質について宇宙実験を実施するのに十分量の試料を供給でき、かつ、スペースシャトルのフライト条件(20°Cで7日以内に結晶成長が完結する)を満足するということを判定基準として、宇宙実験に用いる試料を検索した。

その結果、5種類のタンパク質試料を宇宙実験の試料として選定し、結晶化条件として緩衝液の種類、濃度、pH、タンパク濃度、沈殿剤の種類と濃度についてさらに最適条件を検討した。最終結果は下に示した通りである。結晶化条件の最終決定はフライトモデルと同一の結晶化容器(エンジニアリングモデル)を用い、20°Cに温度制御されたインキュベータを使用して行った。6番目の試料はヒトインシュリンで、協同研究者であるアラバマ大学バグ教授が選定したものである。

ニワトリ卵白 リゾチーム

試料1

実験条件：	バッファー	40mM 酢酸緩衝液 pH4.7
	タンパク質濃度	28mg/ml
	沈殿剤濃度	38mg/ml NaCl

試料2

実験条件：	バッファー	25mM 酢酸緩衝液 pH4.5
-------	-------	------------------

タンパク質濃度 10mg/ml
沈澱剤濃度 20mg/ml NaNO₃

ウマ骨格筋 ミオグロビン

試料 3

実験条件： バッファー 100mM 酢酸緩衝液 pH6.9
タンパク質濃度 8mg/ml
沈澱剤濃度 60% satn. (NH₄)₂SO₄

緑膿菌 ω-アミノ酸ピルビン酸アミノ基転移酵素

試料 4

実験条件： バッファー 10mM リン酸カリウム緩衝液 pH7.0
タンパク質濃度 8mg/ml
沈澱剤濃度 35% satn. (NH₄)₂SO₄

クモノスカビ リパーゼ

試料 5

実験条件： バッファー 100mM HEPES ナトリウム緩衝液 pH6.5
タンパク質濃度 9mg/ml
沈澱剤濃度 15% (W/V) PEG 8000

ヒト インシュリン

試料 6

実験条件： バッファー 蒸留水 pH6.7
タンパク質濃度 34mg/ml, pH3.55
沈澱剤濃度 5mM リン酸二ナトリウム溶液 pH7.55

○飛行実験の結果

・結晶化

タンパク質試料の米国への輸送時から宇宙実験終了後、日本に返送されるまでのタンパク質試料の移動と温度履歴について FMP T 実験 (L-5) の概要を示す (図 2)。また、飛行実験の概略は表 1 に示すように、まず、シャトル打ち上げ 7 時間 9 分後に酵素結晶化キット (ECK) がミッドデッキの冷蔵庫 (OR/RF) から取り出され、スペースラブ内の低温恒温槽 (TEI-LT) に移された。そして、軌道上、0 日目 8 時から実験が開始され、6 種の全ての試料についてタンパク質溶液と沈澱剤溶液が混合された。# 5、# 6 の混合試料液は白

濁したが、他は透明であった。飛行7日目5時19分に実験を終了し、酵素結晶化キットがミッドデッキの冷蔵庫に収納された。この間、タンパク質結晶の写真撮影は、飛行3日目から7日目まで、1日1回行われた。飛行実験中の低温恒温槽 (TEI-LT) の温度と湿度の変化をグラフで表す (図3)。

宇宙実験では静置バッチ法により6種類のタンパク質試料について結晶化実験を行った。そのうち5種類の試料について結晶が晶出した (表2)。

各タンパク質の地上対照実験と宇宙実験の特徴について説明する。

1 リゾチーム (ニワトリ卵白 : NaCl)

地上対照実験では2日目に正方晶に属する結晶を多数確認することができた。結晶のサイズは既に1~2mmに達していた (写真4-11)。しかし、宇宙実験では第6日目にサイズ約1mmの結晶が確認され、微小重力下では結晶成長速度が緩慢であることを示唆している。スペースシャトル帰還直後の顕微鏡観察で、宇宙で晶出した結晶が地上の結晶とは全く異なる結晶であることが判明した (写真4-1,6)。宇宙の結晶は外観的に表面が平滑でなく、微結晶が重なりあって成長したことを示唆しているか、またはなにかの原因でヒビが入ったのかもしれない (写真4-6)。X線回折実験ではこの結晶は明瞭な回折像が現れなかった。

2 リゾチーム (ニワトリ卵白 : NaNO₃)

両者とも単斜晶に属する単結晶が成長した (写真4-2,7,12)。宇宙で晶出した結晶は非常に薄い平板状の結晶で、厚みが0.1mm以下であった (写真4-7)。一方、地上で晶出した結晶は直方体に近く、形状ではむしろX線回折実験には適していた。しかし、結晶学的には両者とも分解能1.5 Å以上の反射データを収集することができる良質の単結晶であった。

3 ミオグロビン (ウマ骨格筋 : (NH₄)₂SO₄)

地上対照実験では写真4-13に示したような結晶を得ることができたが、宇宙実験では顕微鏡下で微小な結晶を数個認めただけで (写真4-3,8)、X線回折実験が可能なサイズの結晶を得ることができなかった。

4 ω-アミノ酸 : ピルビン酸アミノ基転移酵素 (緑膿菌F-126 : (NH₄)₂SO₄)

地上対照実験では結晶化容器に衝撃が加わったため、小さな結晶が晶出してしまった (写真4-14)。宇宙実験では比較的大きな平板状の結晶が晶出した (写真4-4)。そして、試料を日本に持ち帰ったあと、結晶がさらに大きく成長していた (写真4-9)。X線回折実験の結果、この結晶は地上の単結晶と同じ対称性を持ち、結晶学的にも良質であることが判明した。

5 リパーゼ (クモノスカビ: PEG8000)

宇宙実験 (写真4-5,10)、地上対照実験 (写真4-15) 共に針状結晶が得られた。長さは3~7 mmに達したが、直径が0.05mm以下で非常に細く、X線回折実験によるデータは得ることができなかった。

6 インシュリン (ヒト: Na₂HPO₄)

宇宙実験、地上対照実験共に小さな粒状の白い沈澱を生じ、結晶を得ることができなかった。

ω -アミノトランスフェラーゼとリゾチーム (pH4.5) については、モザイク性の少ない高品質単結晶を得ることができたことは特筆すべき成果である (写真4-6, 9)。本実験において、地上対照実験に比較して、結晶成長速度が予想以上に遅延したこと、試料の種類や結晶化条件によって結晶の形状や大きさが必ずしもX線回折実験に好適な単結晶には成長しないこと、などが判明した。

X線結晶解析

リゾチーム (pH4.5, 単斜晶) と ω -アミノ酸: ピルビン酸アミノ基転移酵素 (斜方晶) については分解能約1.5Å範囲の3次元反射データを収集することができた (表3)。各結晶の測定条件は下記のとおりである。

リゾチーム: サイズ 0.32mm x 0.12mm x 0.02mm

$\lambda = 0.900 \text{ \AA}$, $\omega/Z = 1.5\text{deg}$, speed: 2.0 deg/sec, oscillation: 50 times,
average ring current: 290mA, No. of IP: 20, overlap: 0.5deg,
total oscillation angle: 190.5deg, camera length: 268.5 mm

ω -アミノトランスフェラーゼ: サイズ 0.3mm x 0.3mm x 0.5mm

$\lambda = 0.900 \text{ \AA}$, $\omega/Z = 2.0\text{deg}$, speed: 2.0 deg/sec, oscillation: 20 times,
average ring current: 273mA, No. of IP: 13, overlap: 0.5deg,
total oscillation angle: 156.5deg, camera length: 430 mm

宇宙で晶出した ω -アミノトランスフェラーゼの晶系は斜方晶に属し、地上で得られる結晶の空間群と同一であった (表3)。

一方、pH4.5で硝酸ソーダから晶出した宇宙のリゾチーム結晶は非常に薄い板状結晶で地上の直方体結晶とは形が異なっていたが、両者とも単斜晶に属する単結晶であった。リゾチームについてはこれまで、 $\beta = 91^\circ$ または 114° の2種類の異なる単斜晶が存在することが報告されている。両者とも $\beta = 91^\circ$ の単位胞の取り方が可能で、酷似しているが、異種結晶であることが明らかにされている

[13-16]。宇宙で得られた薄型結晶はX線回折実験の結果、通常、地上で晶出する単斜晶 ($\beta = 114^\circ$) とは異なり、 $\beta = 91^\circ$ の結晶であることが判明した。

以上、宇宙の微小重力場では地上対照実験に比較して結晶成長速度が遅れたり、結晶の形状に差異が認められたものの、宇宙の結晶の方が高分解能までより多くの良質の反射データを収集することができたので、結晶性については地上で晶出した単結晶よりもX線結晶学的に良質でモザイク性の少ない良質の単結晶であると考えられる。

・実験の考察

スペースラブ-J ミッションは当初、7日間の宇宙飛行が予定されたが、実際には1日延期されて、実質7日間の結晶成長実験を実施することができた。しかし、実験終了後、地上で新たに結晶成長が確認されたことは実験期間が短かったことを証明している。宇宙での結晶化実験の終了と実験終了後の結晶の取扱、特に、試料を遠隔地に持ち帰らなければならない場合については今後課題を残した。諸外国でも結晶化装置の改良と開発が活発に行われており、宇宙実験を継続する限り、日本でも宇宙ステーションの利用に向けて真剣に今後の課題に取り組んでいく必要がある。

X線結晶構造解析が現在タンパク質の分子全体の構造（静的な平均構造）を解明する唯一の手段であり、かつ、難病、成人病などの治療薬開発に貴重な構造情報を提供する研究手段であることを考慮すると、宇宙実験で高品質のタンパク質単結晶を得ることができたという事実は、宇宙環境を利用することによってタンパク質構造の精度を向上させ、ひいては新薬の開発に貢献できる。また、タンパク質の動的構造（構造の機能的動き）を把握するためには、時間分割ラウエ法による動的結晶構造解析をする必要がある。この方法を実現するためには、まだ解決すべき問題が多く残っているが、モザイク性の少ない高品質単結晶必須であり、宇宙の微小重力環境はこの要求を満たすことのできる好適な結晶成長場であることが宇宙実験によって明らかになった。

この研究分野における先端科学技術の進展とタンパク質の動的構造の解明によって得られる情報は宇宙環境を利用する事によって達成できるものであって、本実験の果たす役割は重要である。

結論

1. 微小重力下では結晶成長が緩慢になる。

微小重力下では溶質分子とタンパク質分子の重量差がなく、溶液中の対流も生じないので、結晶核生成及び結晶成長が拡散律速となり、タンパク質分子間

の相互作用がタンパク質分子の表面特性（電荷、疎水性）に支配される。

2. 単結晶の結晶形は結晶核の特性（タンパク質分子表面の特性）によって決まる。

同一条件でも宇宙の微小重力下と地上では、結晶化条件によっては異なる単結晶が晶出し、結晶核生成時、宇宙環境ではタンパク質分子表面の物理的特性によって地上とは微妙にタンパク質分子の挙動が異なることを示唆している。

3. 宇宙の微小重力下ではモザイク性の少ない高度に分子配列の良い、良質の単結晶が得られる。しかし、単結晶の形状や大きさは必ずしもX線回折実験に好適なものばかりとは限らない。

結晶核生成が主としてタンパク質分子表面の物理的特性の影響を受けるような環境で拡散律速によって進行する場合、タンパク質分子の会合がゆっくり、より正確に行われるので結晶核内部の分子配列の程度が地上の重力場に比較して高くなることが考えられる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、科学技術庁、宇宙開発事業団、三菱重工業株式会社から1981年に本実験テーマがFMP T宇宙実験テーマとして採択されて以来、長年にわたりご支援をいただいた。上記機関の宇宙実験関係者の方々のご援助に対して深く感謝の意を表します。また、地上実験での3人の日本人科学技術搭乗者、毛利 衛博士、向井千秋博士、土井 隆博士の本テーマに対するご努力とご協力に対し深甚の謝意を表します。特に、スペースシャトル「エンデバー」(STS-47)での宇宙実験を担当していただいた毛利宇宙飛行士はじめ、乗組員の方々のご協力に厚く御礼申し上げます。そして、大阪国際女子大学柴田克己教授、NASAのハンガーLの技術者の皆さんには現地フロリダでの実験準備を手伝っていただいた。ここに明記し、深謝します。

引用文献

1. Aibara, S. and Morita, Y., *J. Crystal Growth*, **116**, 289-293 (1992).
2. Littke, W. and John, C. *Science*, **225**, 203-204 (1984).
3. DeLucas, L. J., Suddath, F.L., Snyder, R., Naumann, R., Broom, M.B., Pusey, M., Yost, V., Herren, B., Carter, D., Nelson, B., Meehan, E.J., McPherson, A. and Bugg, C.E. *J. Cryst. Growth*, **76**, 681-693 (1986).
4. 森田雄平 日本マイクログラビティ応用学会誌, **2**, 4-6 (1985).

5. 森田雄平 日本結晶学会誌, **28**, 47-49 (1986).
6. Ries-Kautt, M. M., and Ducruix, A.F. *J. Biol. Chem.*, **264**, 745-748 (1989).
7. Dau trevaux, M., Boulanger, Y., Han, K., and Biserte, G. *Eur. J. Biochem.*, **11**, 267-277 (1969).
8. Watanabe, N., Sakabe, K., Sakabe, N., Higashi, T., Sasaki, K., Aibara, S., Morita, Y., Yonaha, K., Toyama, S., and Fukutani, H. *J. Biochem.*, **105**, 1-3 (1989).
9. Kohno, M., Kugimiya, W., Hashimoto, Y. and Morita, Y. *J. Mol. Biol.*, **229**, 785-786 (1993).
10. DeLucas, L. J. personal communication.
11. Sakabe, N. *Nucl. Instrum. Methods*, **A303**, 448-463 (1991).
12. Higashi, T. *J. Appl. Cryst.*, **22**, 9-18 (1989).
13. Steinrauf, L. K. *Acta Cryst.*, **12**, 77-79 (1959).
14. Hogle, J., Rao, S.T., Mallikarjunan, M., Beddell, C., McMullan, R.K. and Sundaralingam, M. *Acta Cryst.*, **B37**, 591-597 (1981).
15. Rao, S.T., Hogle, J. and Sundaralingam, M. *Acta Cryst.*, **C39**, 237-240 (1983).
16. Artymiuk, J., Blake, C.C.F., Rice, D.W. and Wilson, K.S. *Acta Cryst.*, **B38**, 778-783 (1982).
17. 相原茂夫 宇宙生物科学, **7**, (1994) in press.
18. Cruickshank, D. W. J., Helliwell, J. R., Johnson, L. N., Moffat, K., and Sir Phillips, D. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* **A340**, 167-334, Ed. by Cruickshank, D. W. J., Helliwell, J. R., and Johnson (1992).

図及び表の説明

図1 酵素結晶化容器の構造

- a. 酵素結晶化容器の構造, b. 試料溶液充填後 (混合前)
- c. 試料溶液混合後 (過飽和状態)

図2 宇宙実験における結晶化実験の概要

図3 低温恒温槽 (TEI-LT) の温度と湿度変化

写真1 酵素結晶化容器

写真2 酵素結晶化キット

写真3 写真撮影装置

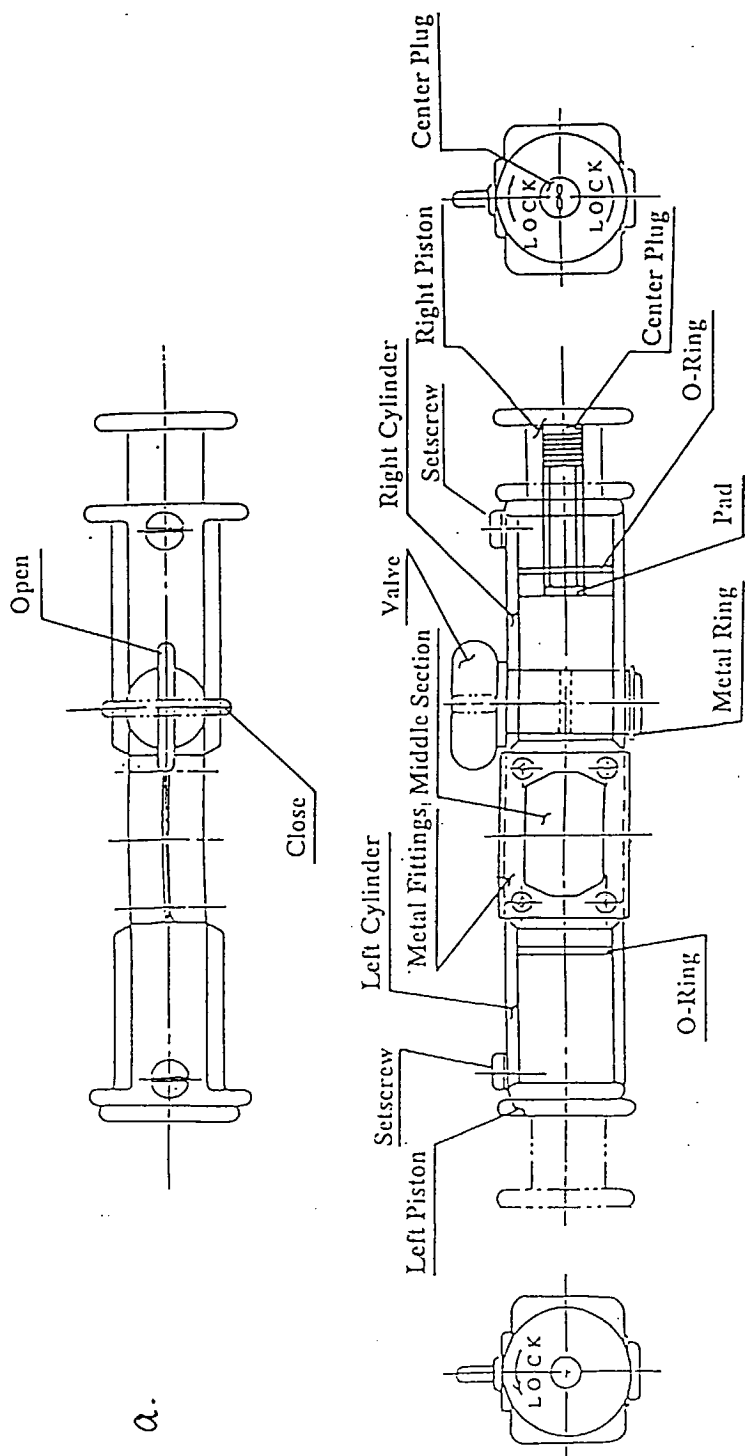
写真4 結晶写真

- #1,#6,#11:リゾチーム (ニワトリ卵白, pH 4.7) ; #2,#7,#12:リゾチーム (ニワトリ卵白, pH 4.5) ; #3,#8,#13:ミオグロビン (ウマ骨格筋) ;
- #4,#9,#14: ω -アミノ酸:ピルビン酸アミノ基転移酵素 (緑膿菌F-126) ;
- #5,#10,#15:リパーゼ (クモノスカビ)
- #1~#10:宇宙で成長した結晶 ; #11~#15:地上対照実験で晶出した結晶

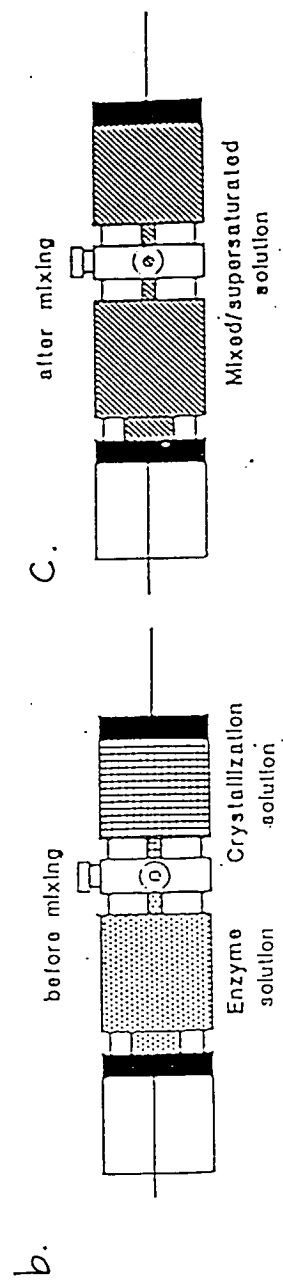
表1 飛行実験の概要

表2 宇宙の微小重力環境における結晶化実験の成果

表3 宇宙で成長した結晶のX線結晶学的データ

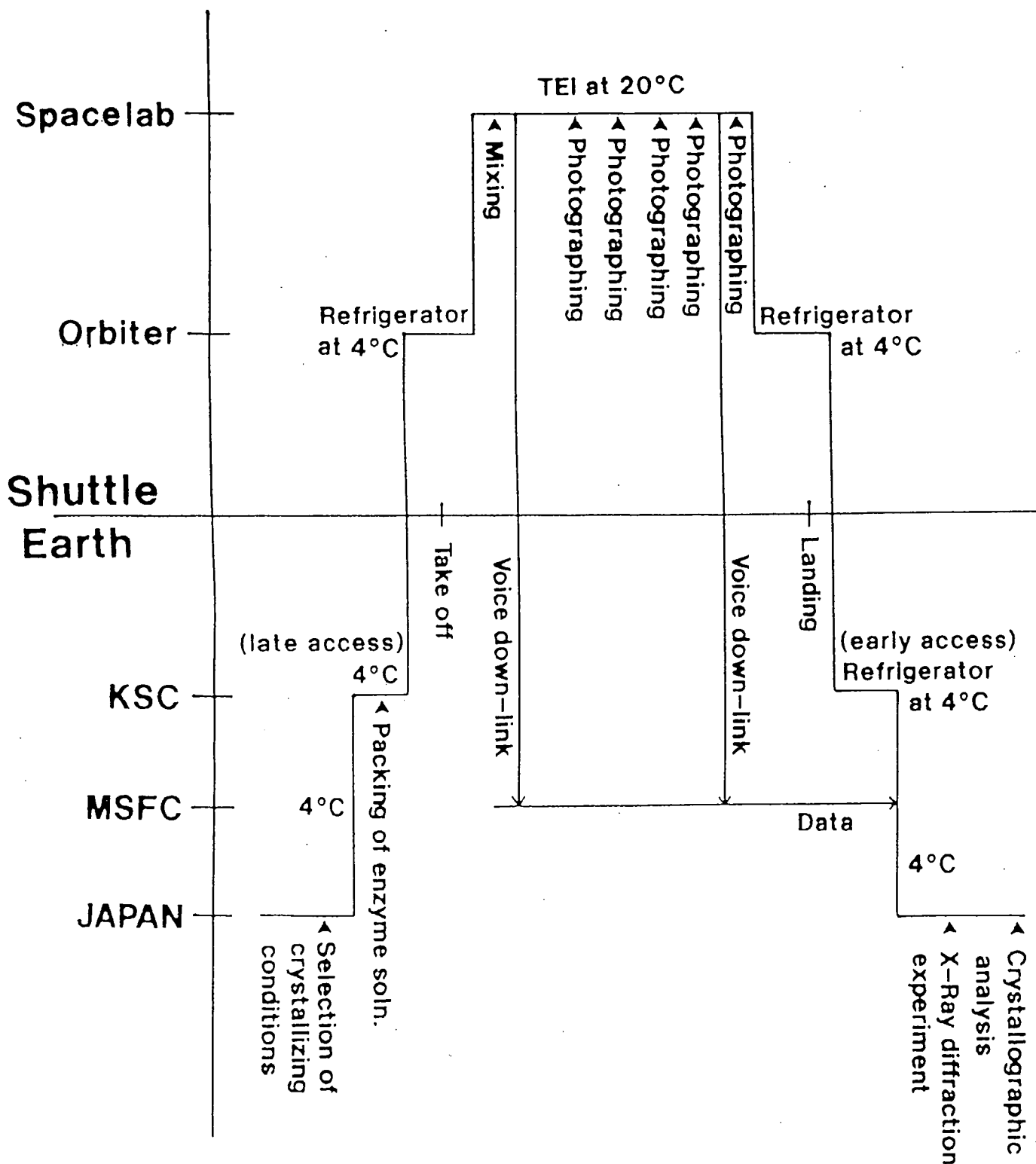


a.



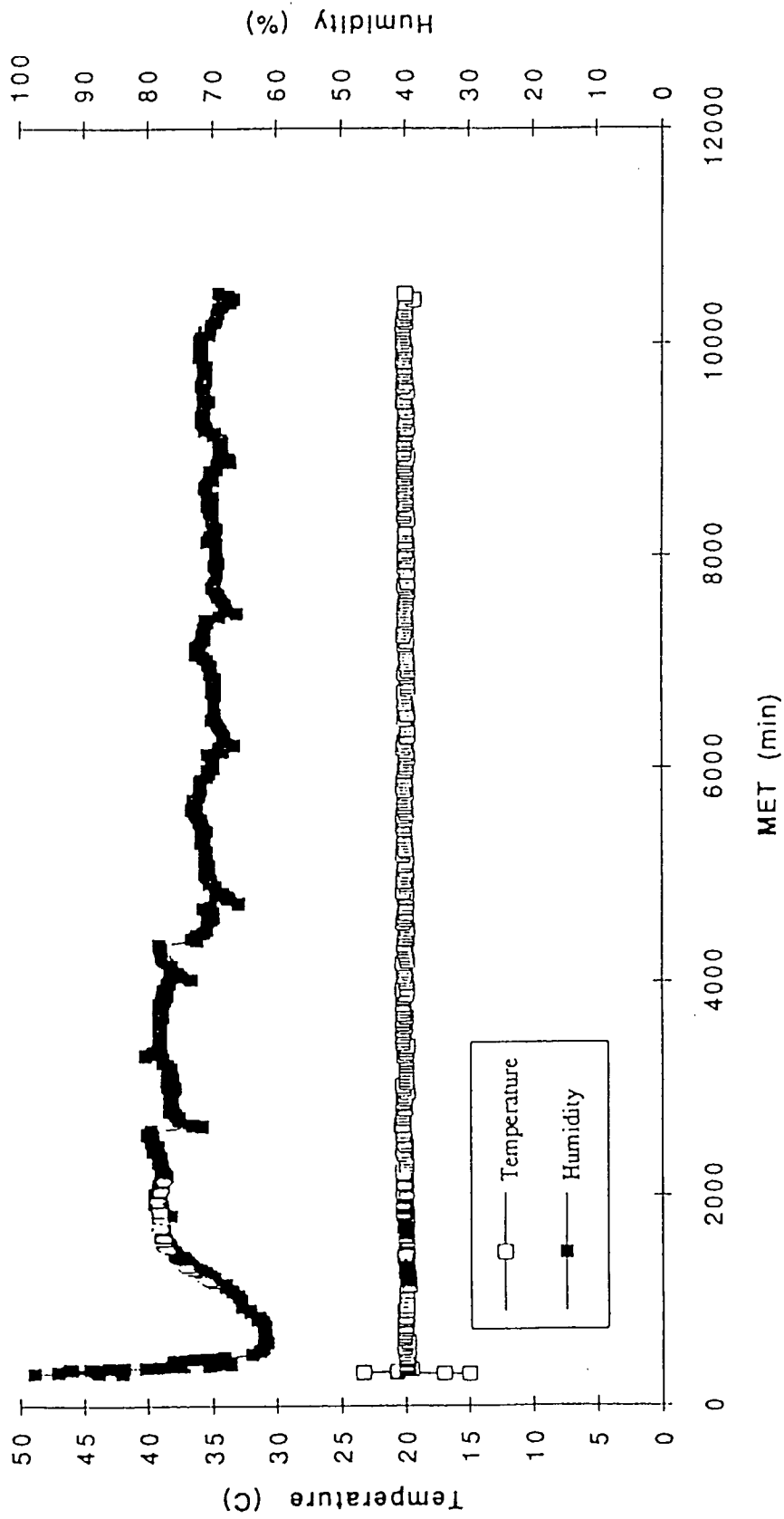
b.

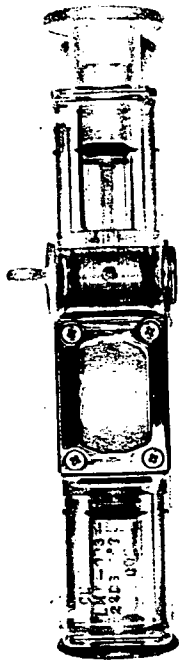
c.



Outline of FMPT Spacelab Experiment

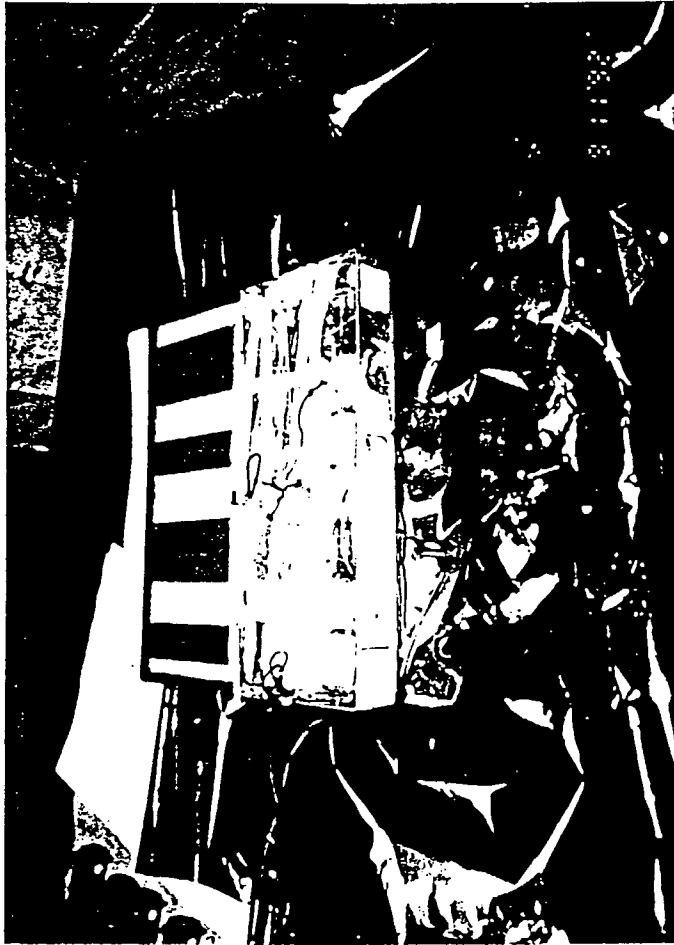
Changes in Temperature and Humidity in TEI-LT

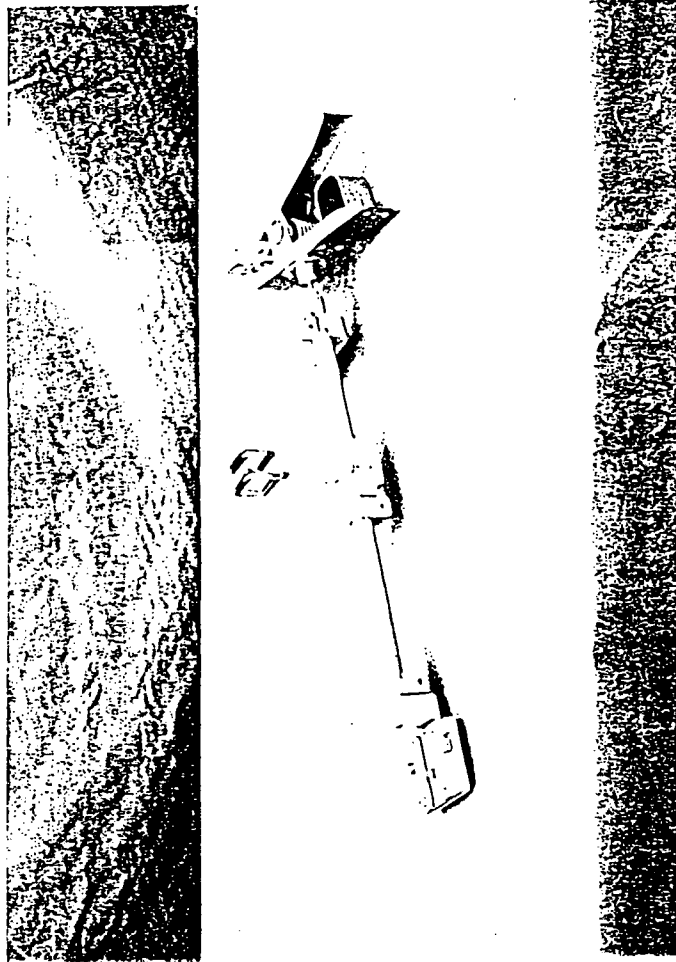


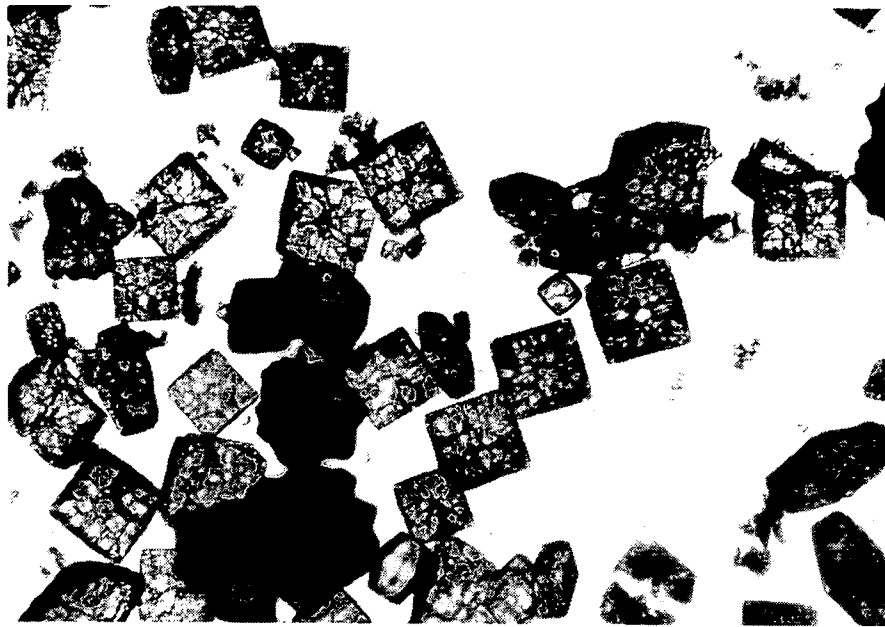


Crystallization Cell

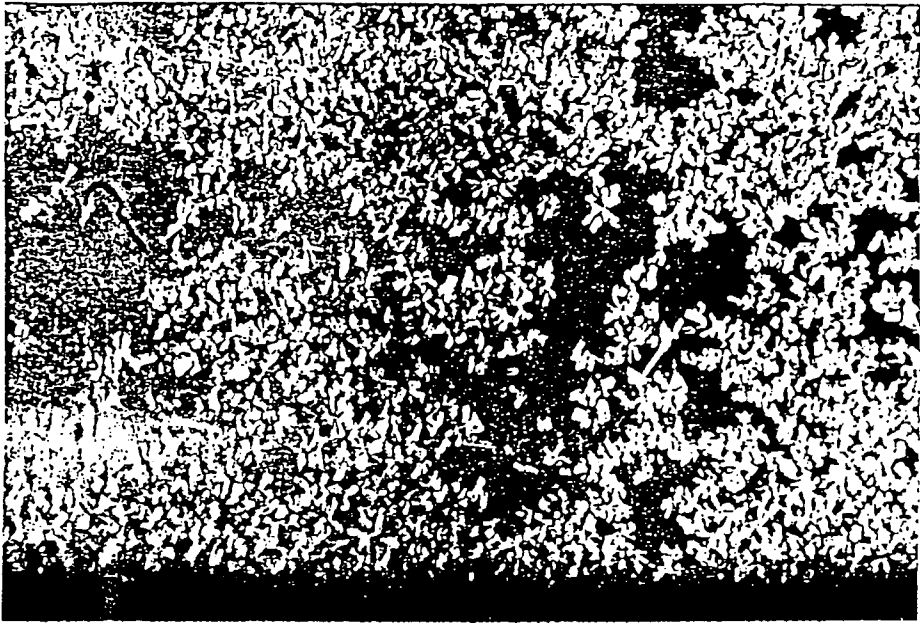
写真 1



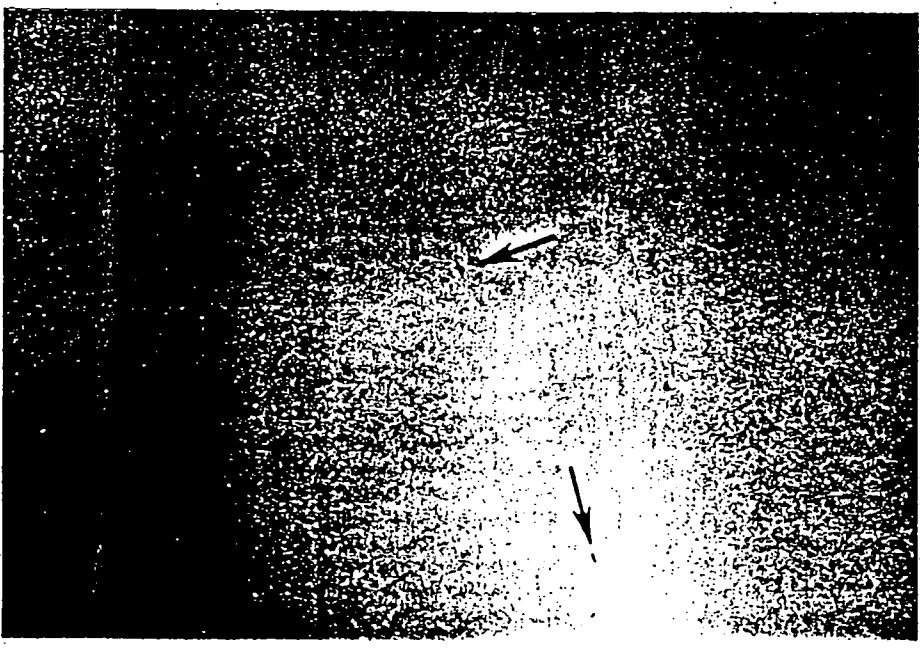




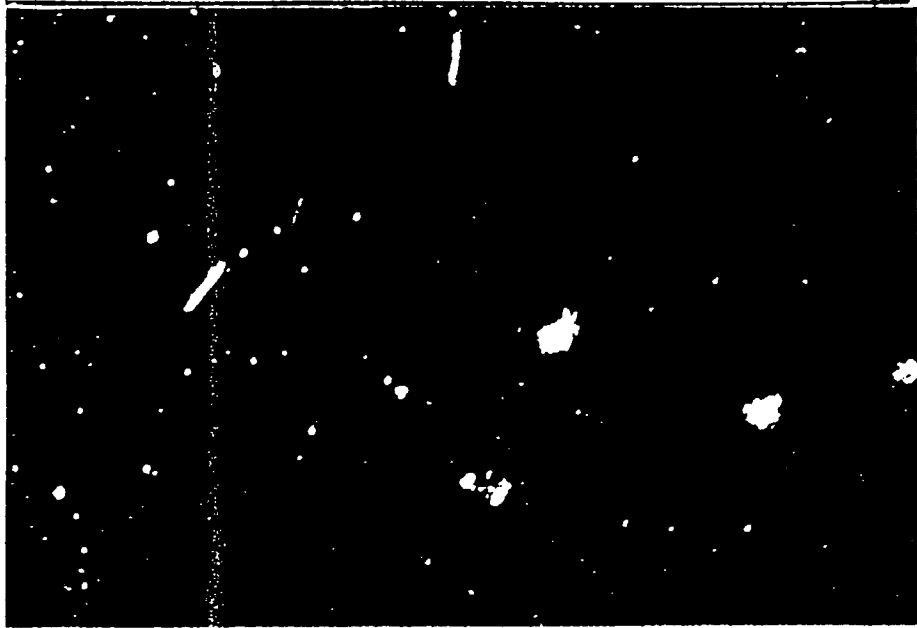
4-1



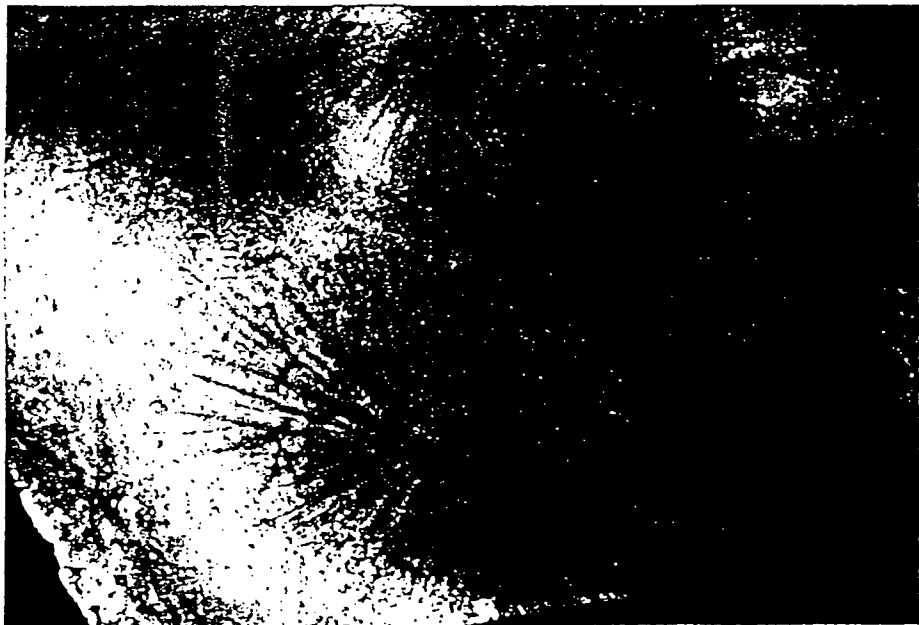
4-2



4-3-208-



4-4



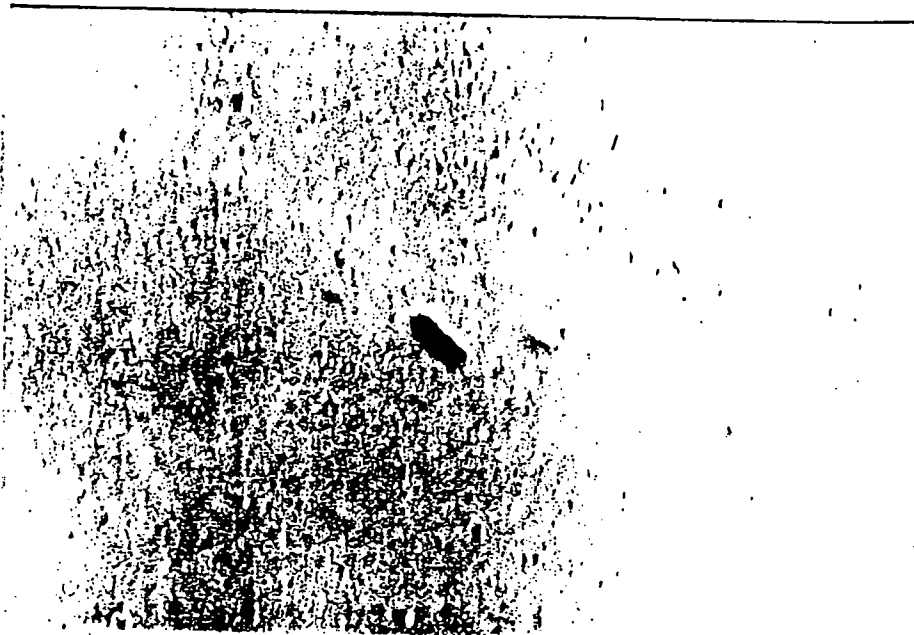
4-5



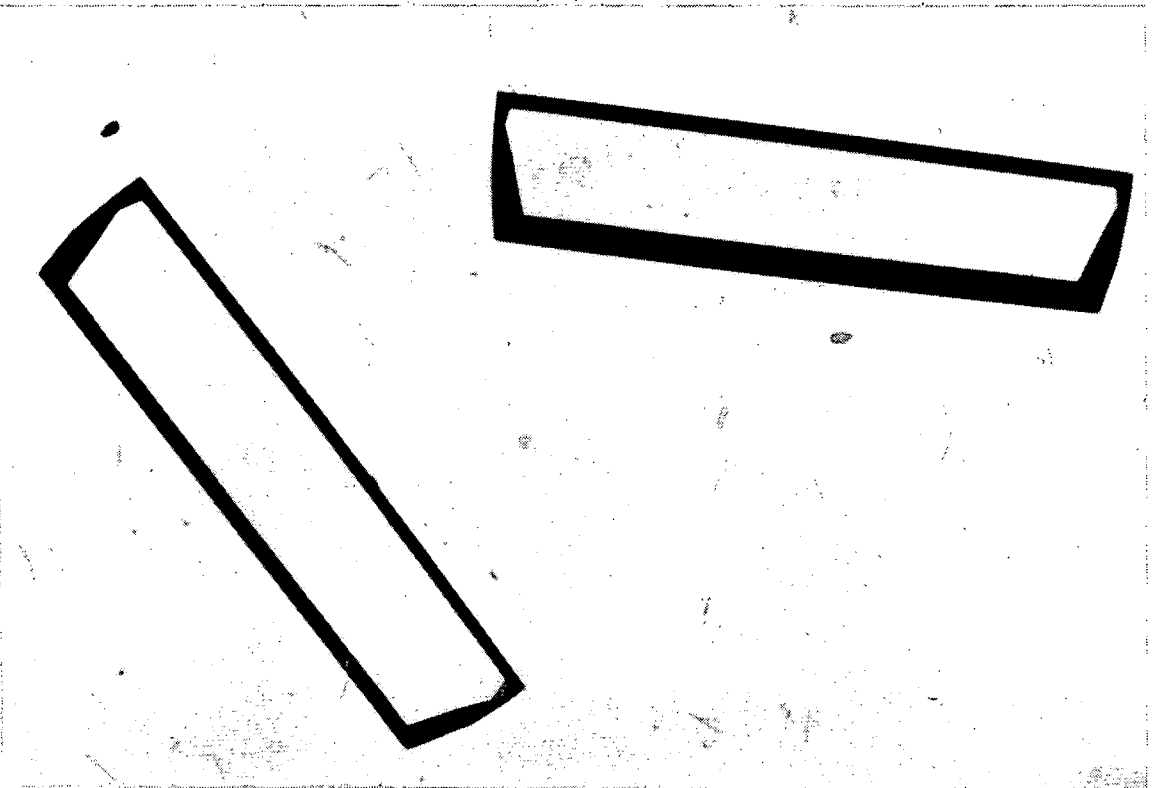
4-6



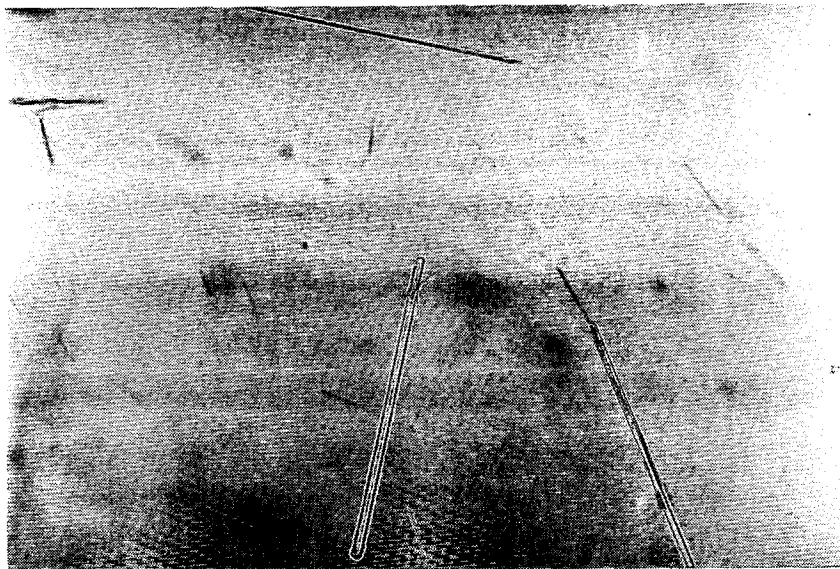
4-7



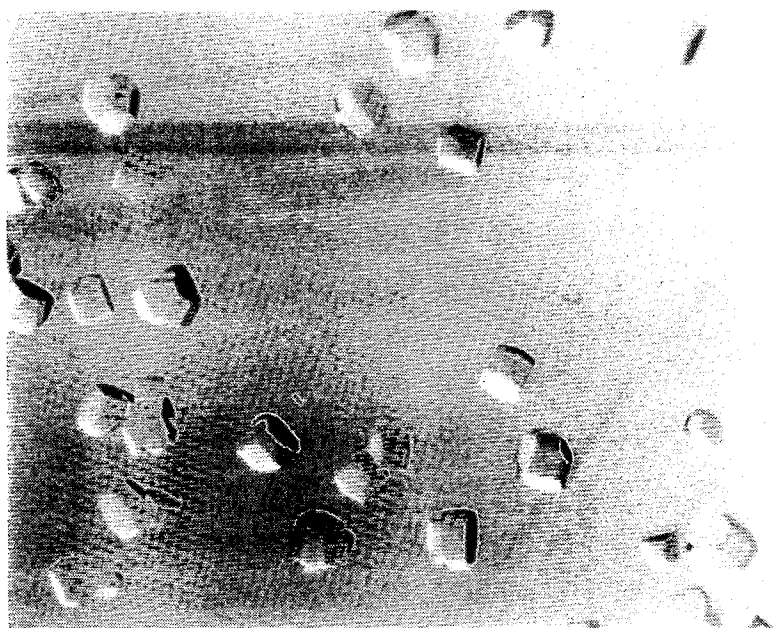
4-8



4-9



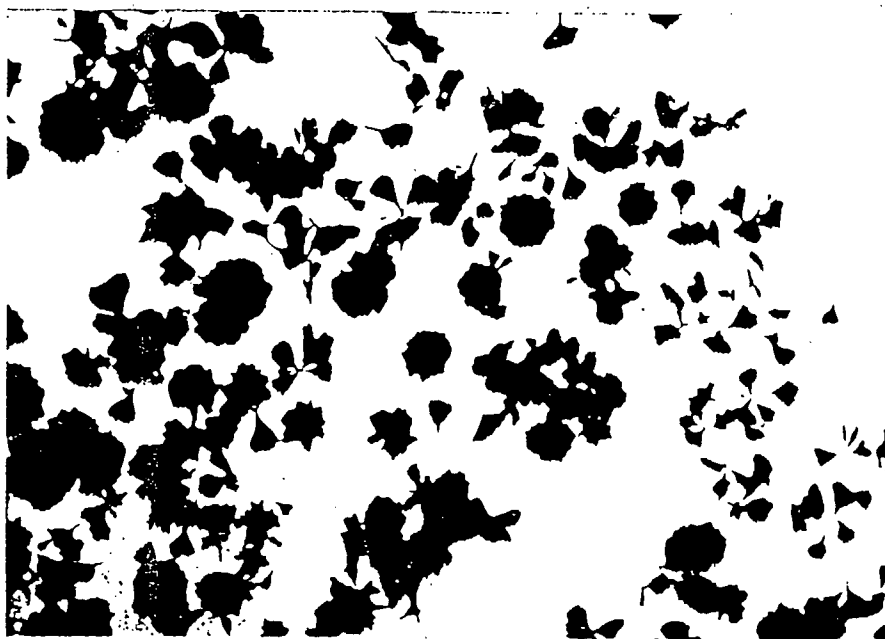
4-10



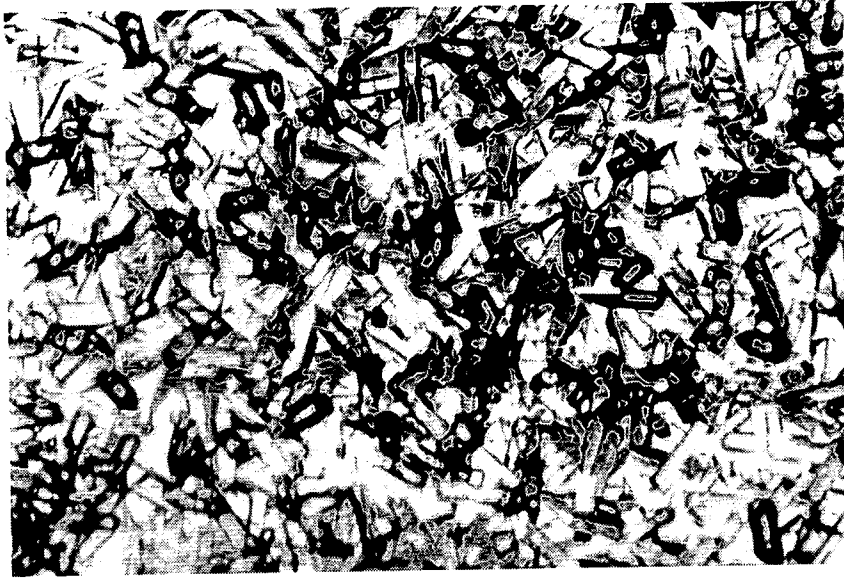
4-11



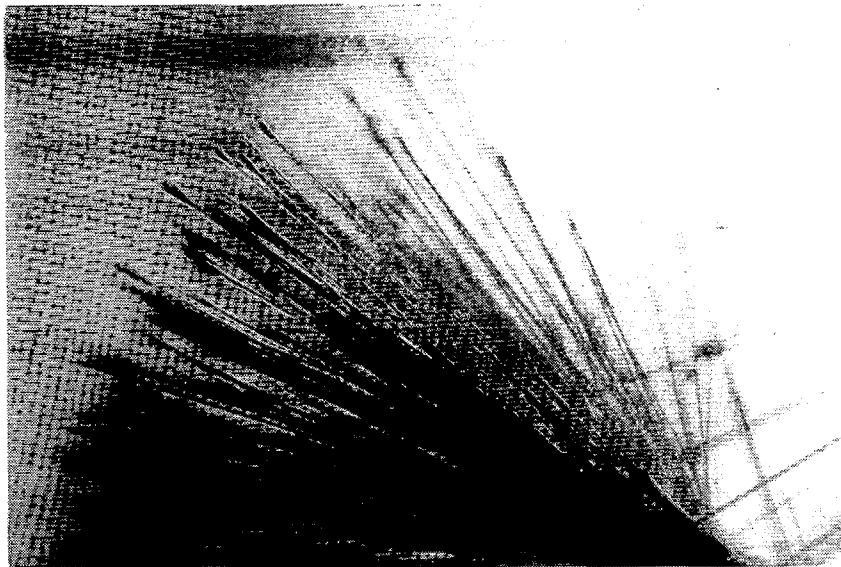
4-12



4-13



4-14



4-15

FMPT ONGOING EXPERIMENT INFORMATION

LAUNCH: MET 0/00:00 Sept. 12 92 10:23:00

EVENT	Original Plan time		Executed time	
	D/	HH:MM	D/	HH:MM
1. ACTIVATION (ECK;OR/RF TEI(LT))	0/	6:50	0/	7:09
2. MIXING (MIXING,ECK;TEI(LT))	0/	7:36	0/	8:00
3. PHOTO (MET DAY 3)	3/	5:36	3/	6:34
4. PHOTO (MET DAY 4)	4/	5:57	4/	6:59
5. PHOTO (MET DAY 5)	5/	2:00	5/	3:26
6. PHOTO (MET DAY 6)	6/	3:09	6/	3:25
7. PHOTO (MET DAY 7)	-		7/	5:04
8. DEACTIVATION(ECK;TEI(LT) OR/RF)	6/	3:55	7/	5:19

LANDING: rare MET 7/22:30:21 Sept. 20 92 8:53:21
 front MET 7/22:30:39 Sept. 20 92 8:53:39

Results of protein crystallization under the microgravity environment in space

STS-47 FMPT

Sample protein	Crystals		Shape compared with ground-grown crystals
	Space-grown	after space experiment	
Lysozyme, pH4.5	Yes		Different
Lysozyme, pH4.7	Yes		Different
Myoglobin	No	No	
ω -Aminotransferase	Yes	Yes	Similar
Lipase	Yes		Similar
Insulin	No	No	

X-Ray crystallographic data of space-grown crystals

enzyme	crystal system	crystal lattice (Å)			space group	crystal angle(°)			Source*
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>		α	β	γ	
lysozyme	monoclinic	28.1268	63.0252	60.7566	<i>P</i> 2 ₁	90	91.2	90	1
		28.0185	63.0289	60.7583	<i>P</i> 2 ₁	90	91.2	90	2 [§]
		27.9	63.1	60.6	<i>P</i> 2 ₁	90	90.5	90	3 [‡]
ω -amino-transferase	orthorhombic	124.6952	137.5782	61.5073	<i>I</i> 222	90	90	90	1
		124.7	137.9	61.5	<i>I</i> 222	90	90	90	4 [‡]

X-Ray diffraction experiment was carried out using a synchrotron radiation with imaging plate as a detector.

* 1, This work; 2, Aibara, S. *et al* (1992); 3, Steinrauf, L.K. (1959); 4, Watanabe, N. *et al* (1989)

§ IML-1, ‡ earth-grown crystal