

強磁場利用によるタンパク質結晶の高品質化

Quality improvement of protein crystals in a high magnetic field

○中村 颯、大塚 淳、宮園 健一、山村 昭裕、窪田 恵子、広瀬 量一¹、廣田 憲之²、安宅 光雄³、澤野 頼子、田之倉 優（東大院農生科・応生化、¹JASTEC、²物材機構、³産総研）

○Akira Nakamura, Jun Ohtsuka, Ken-ichi Miyazono, Akihiro Yamamura, Keiko Kubota, Ryoichi Hirose¹, Noriyuki Hirota², Mitsuo Akata³, Yoriko Sawano, Masaru Tanokura (Univ. of Tokyo, ¹JASTEC, ²NIMS, ³AIST)

【目的】精密立体構造解析においては、高分解能のX線回折像を与える高品質結晶を用いる必要があるが、良質な結晶を得ることは容易ではない。結晶品質向上の取り組みの中で、超伝導マグネットが作り出す強磁場やその磁場勾配から生じる磁気力を利用することが提案された。本研究は、様々なタンパク質試料を強磁場・磁気力場環境において結晶化し、その品質を重力場で得た結晶と比較することにより、強磁場・磁気力場結晶化の有効性を評価、実証することを目的とした。

【方法】19種類のタンパク質を精製し、これらの試料を適切な沈殿剤と混合して、シッティングドロップ蒸気拡散法により20℃で結晶化させた。超伝導マグネットとしては、JMA-15T40 (JASTEC)を使用し、 $B=7.5\sim 12.5$ T、 $B_z dB_z/dz \leq -1200$ T²/mとなる領域で結晶化実験を行った。この領域での水滴にかかる実効重力は $-0.1\sim +0.1G$ である。結晶化実験開始から約2週間後に磁場空間から試料を取り出し、磁場中で得られた結晶および対照実験として重力場で得られた結晶についてX線回折実験を行った。取得したデータを解析し、X線回折の最高分解能、結晶のモザイク性、結晶全体の温度因子に基づいて結晶品質を評価した。

【結果】磁場中で生成された結晶の外観上の特徴として、クラスター化の抑制、大型化の傾向があった。これらの特徴は宇宙空間における微小重力環境下での結晶化においても報告されており、本研究では勾配磁場に起因する上向きの磁気力がタンパク質溶液に作用して実効重力を低減させたことにより、自然対流が抑制された結果を反映していると考えられる。また、磁場中で生成された結晶では、磁場方向と平行に配向するものが複数確認された。これらの磁場配向した結晶は、配向していない結晶や対照実験で取得した結晶と比較して、X線回折分解能が向上するなど品質改善を示す結果が得られた。本研究においては、磁場配向が認められなかった試料を含む合計6種類のタンパク質について、強磁場・磁気力場中での結晶化による結晶品質の向上が確認された。これらの事例では、結晶核形成の抑制、不純物の取り込み抑制、結晶内分子配列の均質化などの効果が品質改善の主要な要因として考えられるが、特に磁場配向した結晶に関しては、微結晶状態での規則正しい分子整列や結晶成長方向の変化が高品質化に寄与したと推測される。上記のように約30%の確率で結晶品質が向上し、強磁場・磁気力場結晶化の有効性が示唆された。一方、本研究において顕著な品質向上が確認されなかった試料に関して、強磁場・磁気力場中で得られた結晶が対照実験で得られた結晶と同等のX線回折能を有していたことから、タンパク質結晶化において強磁場・磁気力場が負の影響を及ぼす可能性は低いと言える。