

## 前方光散乱によるタンパク質凝集・結晶化の評価

Characterization of Protein Aggregation and Crystallization  
using Forward Light Scattering

茨城高専, °若松 孝

Ibaraki National College of Technology, °Takashi Wakamatsu

E-mail: wakamatu@ee.ibaraki-ct.ac.jp

【はじめに】タンパク質の機能とその構造との関係を明らかにすることは、ライフサイエンスをはじめ、タンパク質の診断・治療薬への応用開発に大変重要である。しかしながら、X 線や中性子線回折による構造解析に必要なタンパク質結晶の作製が、ボトルネックとなっている。これまでに我々は、タンパク質の結晶化溶液の前方光散乱( $<8^\circ$ )が、凝集体形成に対して極めて高感度であることを見出している[1,2]。前方光散乱(FLS)により、結晶化前のタンパク質溶液の状態が詳細に判明できれば、FLS 法が結晶化スクリーニングの有力な方法となる。ここでは、FLS 法によるリゾチームタンパク質の凝集体形成の評価と結晶化との関係について報告する。

【実験方法と結果】タンパク質にはニワトリ卵白リゾチーム(HEWL)を使用し、結晶化溶液の緩衝液に 0.05 M 酢酸-酢酸 Na 溶液(pH4.6)を、結晶化剤には NaCl を用いた。タンパク質の結晶成長に適する準安定領域付近における結晶化溶液に対して、開発の分析装置[3]により前方静的光散乱(F-SLS)を計測し、HEWL の凝集体形成を評価した。Fig.1 は、NaCl 濃度の異なる結晶化溶液の F-SLS 特性(両対数プロット)である。塩濃度 4.0%、5.0%(w/v)の HEWL 溶液は、負の非整数べき乗となる特徴的な光散乱パターンを示すことが分かる。これは、結晶化前段階でリゾチームがフラクタル凝集することを示している。フラクタル凝集を形成した溶液では、2 日後にリゾチームの微結晶生成が確認された。F-SLS から評価したべき数 $\alpha$ と NaCl 濃度の関係を Fig.2 に示す。Fig.2 と HEWL の結晶化条件を対比させたところ、結晶化した HEWL 溶液では、フラクタル次元  $D$  (この場合、べき数 $\alpha$ に等しい)が 1.5~1.6 を超える、比較的密な凝集体を形成することが分かった。

フラクタル凝集に関して議論して頂いた、茨城高専の鯉淵 弘資教授に感謝致します。本研究は、公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団の平成 24 年度研究助成(No.1213)により実施した。

[1] T. Wakamatsu, *Appl. Phys. Lett.* **98**, 263701 (2011). [2] T. Wakamatsu *et al.*, *Appl. Phys. Lett.* **99**,153701 (2011). [3] 若松ら、特願 2010-281562/特開 2012-127904.

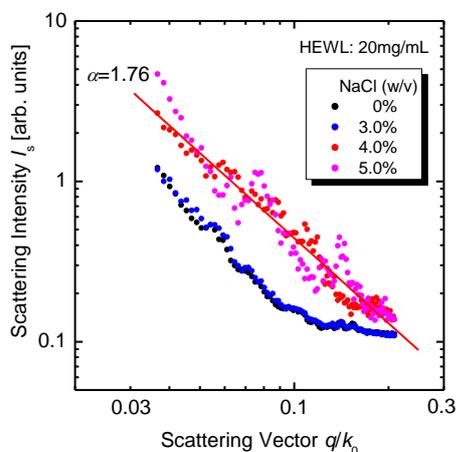
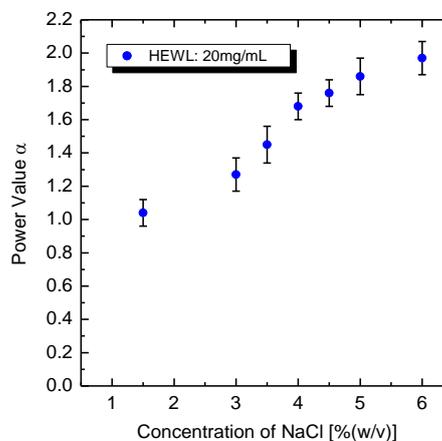


Fig. 1 SLS for HEWL solutions.

Fig. 2. Dependence of the power value  $\alpha$  on the NaCl concentration for HEWL solutions.