20a-D1-2

フェムト秒レーザーを用いたタンパク質結晶の成長制御

Control of proteins growth with femtosecond laser

°冨永勇佑 [1]，林佑紀 [1]，中山智詞 [1]，丸山美帆子 [1]，高橋義典 [1]，吉川洋史 [1,2]，
吉村政志 [1]，杉山成 [3]，安達宏昭 [1,4]，高野和文 [4,5]，村上聡 [4,6]，松村浩由 [1,4]，井上豪 [1,4]，森勇介 [1,4]
阪大院工 [1]，埼玉大院理工 [2]，阪大院理 [3]，創晶 [4]，京府大院生命環境 [5]，東工大院生命理工 [6]

Y. Tominaga[1], Y. Hayashi[1], S. Nakayama[1], M. Maruyama[1], Y. Takahashi[1], H. Yoshikawa[1,2],
M. Yoshimura[1], S. Sugiyama[3], H. Adachi[1,4], K. Takano[4,5], S. Murakami[4,6], H. Matsumura[1,4], T. Inoue[1,4], Y. Mori[1,4]
Grad. Sch. of Eng., Osaka Univ. [1], Dept. of Chemistry, Saitama Univ. [2],
Grad. Sch. of Sci., Osaka Univ. [3], SOSHO Inc. [4], Grad. Sch. of Life and Environ. Sci., Kyoto Pref. Univ. [5],
Grad. Sch. of Biosci. and Biotech., Tokyo Inst. of Tech. [6]

E-mail: tominaga@cryst.eei.eng.osaka-u.ac.jp

はじめに

これまで我々は X 線構造解析を目的とした各種タンパク質の単結晶育成に取り組み、その一つとしてフェムト秒レーザーを用いた結晶核発生誘起技術を報告してきた [1)]。この一連の研究において、溶液中で晶出したタンパク質結晶が一定期間成長すると、過飽和状態においてもその成長が著しく緩やかになる現象が確認されていた。そこで本研究では新たな試みとして、フェムト秒レーザーを用いたタンパク質結晶の成長制御を試みた。具体的には、モデルタンパク質であるニワトリ卵白リゾチーム（HEWL）を用いて、その結晶表面にレーザーを集光照射することで面成長が促進できるかどうかを調査した。

実験と結果

過飽和溶液中で晶出した正方晶 HEWL 数サンプルに対して、(110) 面を構成する各稜の長さ L1, L2, L3, L4（図 1）の経時変化を実体顕微鏡を用いて調べたところ、大半は晶出 3, 4 日後にその成長が急速に緩やかになることが分かった（図 2 の非照射側）。そこで晶出 7, 8 日後、フェムト秒レーザー（中心波長 800 nm, パルス時間幅 330 fs, エネルギー 0.3 μJ/pulse, 繰り返し周波数 1 kHz）を（110）面の裏面側から照射し、その集光点を（01-1）面垂直方向に 100 μm（溶液側 50 μm, 結晶内部 50 μm）走査して（01-1）面に微小な傷を形成した（図 1）。その結果、図 2 に示す様に非照射側 L3, L4 は成長が緩やかなままであったのに対し、照射側 L1, L2 はレーザー照射日以降に成長が促進されることが明らかになった。この現象のメカニズムはまだ明確になっていないが、結晶成長の過程で表面に吸着し、成長を阻害する不純物をレーザー衝撃により除去することに成功したか、あるいは結晶表面にスパイラル成長や二次元核成長の起点など新たな分子ステップの供給源が形成され、低過飽和溶液中でも結晶成長が再開したのではないかと考え、現在更なる調査を進めている。また、本手法で得られた結晶の品質評価も並行して進めている。

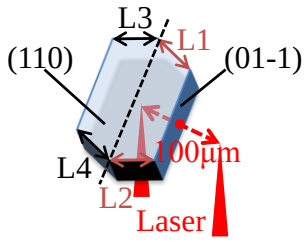

図 1　正方晶 HEWL へのレーザー照射模式図

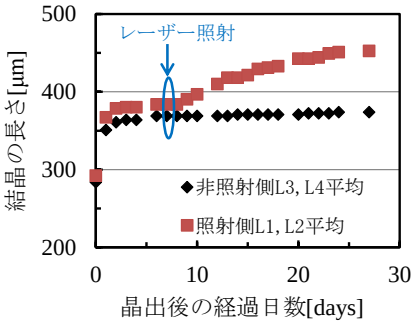

図 2　結晶の成長の様子

参考文献

1) H. Y. Yoshikawa et al., Chem. Soc. Rev., 2014, Advance Article (DOI: 10.1039/C3CS60226E).

© 2014 年　応用物理学会