

前方散乱光瞬時計測によるリゾチーム凝集・結晶化の評価

Characterization of Protein Aggregation and Crystallization by *in-situ* Forward Light Scattering Measurement

福島高専, °若松 孝

National Institute of Technology, Fukushima College, °Takashi Wakamatsu

E-mail: wakamatu@fukushima-nct.ac.jp

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、バイオ・生命科学分野をはじめ、タンパク質の診断・治療薬や機能性食品への応用開発に非常に重要である。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である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、リゾチームタンパク質の結晶化溶液の前方光散乱($<8^\circ$)が、凝集体に対して極めて高感度であることを見出し、結晶化分析装置を開発している[1-3]。これにより、結晶化するリゾチーム溶液では、比較的密なフラクタル凝集体(フラクタル次元 $D_f > 1.5$)が形成されることを明らかにした[4,5]。しかしながら、開発装置ではタンパク質の凝集化過程を追従することが困難であるため、凝集化過程の詳細は未だ不明である。そこで、タンパク質結晶化溶液の前方散乱光を瞬時に計測できる装置を開発した[6]。ここでは、瞬時前方散乱光計測のよるリゾチーム凝集体の評価について報告する。

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[6]で前方静的光散乱を瞬時計測して、HEWL の凝集体形成を評価した。Fig.1 は、NaCl 濃度の異なる HEWL 結晶化溶液 (20 mg/ml) の F-SLS を瞬時計測した結果(10 ms)である。濃度の高い NaCl 4.0%(w/v)の HEWL 溶液は、負の非整数べき乗(べき数 $\alpha=1.74$)となる特徴的な光散乱パターンを示し、結晶化前段階で HEWL が密なフラクタル凝集体を形成する。一方、塩濃度の低い HEWL 溶液(NaCl 2% w/v)では、F-SLS はべき関数を示さず、結晶化前段階で形成される凝集体が疎な構造であることが分かる。2%(w/v) NaCl 含有の HEWL 溶液では、HEWL の結晶成長は見られず、形成された凝集体が疎な構造であったためである。

本研究は、科研費基盤研究 C (No. 26390049) 、及び平成 27 年度ソルト・サイエンス研究財団助成研究(No.1526)により実施した。

[1] 若松 他, 特許第 5821127 号(2015) [2] 若松 他, 特許第 5858274 号(2015) [3] T. Wakamatsu, *Rev. Sci. Inst.*, **86**, 015112 (2015) [4] 若松, 第 74 回秋季応物, 17p-P5-2 (2013) [5] T. Wakamatsu, *Am. J. Anal. Chem.*, **5**, 581 (2014) [6] 若松, 特願 2015-198366(2015).

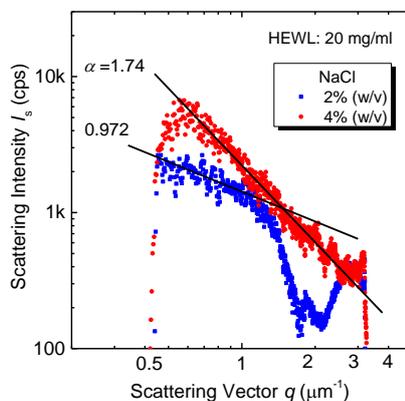


Fig. 1. SLS patterns for HEWL solutions with NaCl