

界面レーザー捕捉による局所的タンパク濃度上昇・結晶化促進の顕微分光

Microspectroscopy of local protein concentration elevation for acceleration of crystallization induced by laser trapping at the air/water interface

○三浦 篤志^{1, 2}、吉松 泉²、喜多村 昇^{1, 2} (1. 北大院理、2. 北大院総化)

○Atsushi Miura^{1, 2}, Izumi Yoshimatsu², Noboru Kitamura^{1, 2} (1, 2. Hokkaido Univ.)

E-mail: atsushi.miura@sci.hokudai.ac.jp

【序】我々はこれまでに、タンパク溶液の気液界面へのレーザー集光・捕捉により集合体・液滴が形成可能であること、さらにこの液滴形成を経た溶液で結晶化が促進されることを報告している^[1,2]。本発表では、レーザー照射により形成される巨大集合体および液滴形成の顕微ラマン分光計測結果を基に、レーザー照射下での濃度変化の観点から界面レーザー捕捉による結晶化促進機構について検討・議論する。

【実験】40 mg/mLの市販ニワトリ卵白リゾチーム (HEWL) 重水溶液 (2 wt% NaCl, pD 5.1, 酢酸ナトリウムバッファー) を調製し試料溶液とした。密閉型セル内に試料溶液を滴下して厚さ数 100 μm 以下の液膜を形成させ、捕捉レーザー光 (1064 nm, ~ 0.8 W) およびラマン励起レーザー光 (488 nm, 30 mW) を溶液の気液界面へ集光した。レーザー照射下の集合体・液滴・結晶形成挙動を CCD カメラで観察するとともに、共焦点顕微ラマン測定によりタンパク質濃度を測定した。

【結果と考察】試料溶液の気液界面へのレーザー照射により集合体の形成・成長が観測された。ラマン散乱強度は集合体形成・成長に伴い急激に増加し初期濃度の 20 倍程度 (~ 800 mg/mL) まで増加した。レーザー照射を停止すると、集合体下部に多数の液滴の形成が観測された。形成された液滴およびその周辺の溶液のラマン散乱強度より、液滴中のリゾチーム濃度は約 250~300 mg/mL、その周囲でも 100~150 mg/mL となり、初期濃度 (40 mg/mL) に比べ高濃度状態になっている事が示された (Fig. 1b)。これより、液滴は局所的な濃度上昇による液液相分離により形成したと考えられる。レーザー非照射の溶液では結晶形成に約 24 時間を要したのに対し、レーザー照射後の溶液では 1 時間程度で数 10 μm 以上の大きさの結晶が形成された。レーザー照射による短時間かつ高効率な結晶化は、レーザー照射により溶液放置による自然核発生による結晶化では到達し得ない局所的な高可飽和状態が形成されるために誘起されたと考えられる。

[1]吉松他, 2015 年第 62 回応用物理学会春季学術講演会. [2] 吉松他, 2015 年第 76 回応用物理学会秋季学術講演会

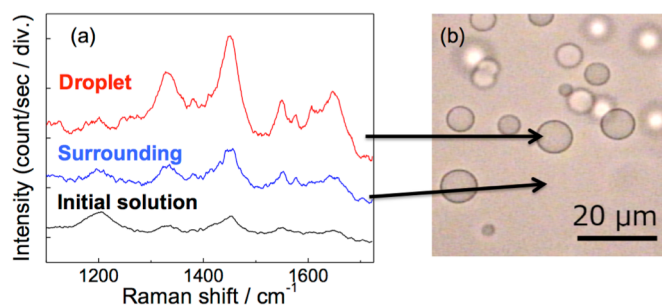


Fig. 1 (a) Raman spectra of laser-induced liquid droplets (red line), surrounding solution (blue line) and initial solution (black line). (b) Microscope image of measured liquid droplets.