前方光散乱瞬時測定による電場印加におけるタンパク質凝集化の観察

Observation of Protein Aggregation under Electric Field 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、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、低電圧(数ボルト)印加によるタンパク質の結晶化促進効果を実証してきた[1,2]。さらに、開発した凝集・結晶化分析装置[3]を使用して、電場印加状態でのリゾチームタンパク質の凝集化を検出することに成功している[4,5]。しかしながら、開発装置[3]ではタンパク質の凝集化過程を時間的に追従することが難しいため、電場印加によるタンパク質の凝集・結晶化促進の詳細は、未だ不明である。そこで、タンパク質溶液の前方散乱光を瞬時に計測できる装置を開発し[6]、ここでは、前方光散乱瞬時測定で捉えた、リゾチームの電場誘起凝集化について報告する。

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(pH 4.6)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]により HEWL 溶液に電場印加下(15 Hz, 2.3 $V_{p\text{-}p}$)で前方静的光散乱(F-SLS)を瞬時計測し、HEWL の凝集体形成を観察した。Fig.1 は、瞬時測定した F-SLS 強度(散乱ベクトルに対する平均値)の時間変化である。電場印加無しの場合に比べて、電場印加直後から散乱光強度は明らかに増大し、電場印加によりリゾチームの凝集化が促進されていることが分かる。また、電場印加の場合、急に散乱光強度が増加することがある。これは溶液状態が一様ではなく、凝集化が進行している領域と進行していない領域のように溶液中で相分離が生じていると推定される。タンパク質の結晶核形成後の相分離現象は、既に報告されているが[7]、ここでは凝集体形成段階での相分離を捉えたものと考えられる。

本研究は、科研費基盤研究 C (No. 26390049)により実施した。

[1] T.Wakamatsu & Y.Ohnishi, *Jpn.J.Appl.Phys.* **50**,048003(2011). [2] T.Wakamatsu, *Trans.Mat.Res.Soc.Jpn.* **41**, 13(2016). [3]特許第 5821127 号(2015). [4] T.Wakamatsu, *Rev. Sci. Inst.* **86**,015112(2015). [5]特許第 5858274 号(2015). [6]特願 2015-198366 (2015). [7] M.Muschol & F.Rosenberger, *J.Chem.Phys.* **107**,1953(1997).

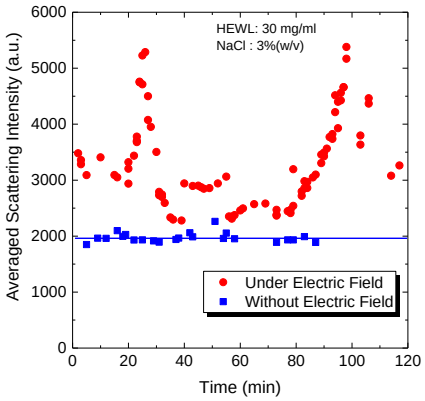

Fig. 1. Time change of SLS intensity for HEWL solutions under electric field.

© 2017年 応用物理学会