

レーザー捕捉誘起液液相分離を利用したタンパク結晶化：顕微ラマン分光測定による局所濃度上昇の可視化

Laser trapping-induced liquid-liquid phase separation of protein solution for crystallization of protein: Local concentration elevation observed by Raman spectroscopy

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

○Izumi Yoshimatsu¹, Atsushi Miura^{1, 2}, Noboru Kitamura^{1, 2} (1, 2. Hokkaido Univ.)

E-mail: izumi.y@frontier.hokudai.ac.jp

【序】光圧を利用したレーザー捕捉では、時間および空間的に分子集合体形成をコントロール可能であり、光圧下での分子集合形成ダイナミクスの解明や、高次秩序構造を持つ分子集合体、すなわち結晶作製への技術応用が期待できる。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により集光点でタンパク集合体や高濃度液滴が形成されること、さらにこの液滴形成（液液相分離過程）を経た溶液中で結晶化が促進されることを報告している^[1,2]。高過飽和度のタンパク溶液では液液相分離・液滴形成が誘起され得るが、上記実験に用いられた溶液の過飽和度は低く、液液相分離・液滴形成は通常起こり得ない。本発表では、レーザー捕捉により誘起される液液相分離・結晶化促進の機構を理解すべく、集合体形成過程・液液相分離過程の濃度変化を顕微ラマン分光測定により検討した結果を報告する。

【実験】市販ニワトリ卵白リゾチームの重水溶液（沈殿剤: NaCl、緩衝液: 酢酸ナトリウム）を調製し試料溶液とした。密閉型測定セル内にこの溶液を滴下して厚さ 100～数 100 μm の液膜を形成し、気液界面へ CW 近赤外レーザー光（1064 nm, ~ 0.8 W）を対物レンズを通して照射・集光した。レーザー照射下の集合体形成・液滴形成挙動、結晶形成を CCD カメラで観察するとともに、顕微ラマン測定を行い集光点近傍のタンパク質濃度変化を測定した。

【結果と考察】リゾチーム重水溶液（40 mg/mL, 2 wt% NaCl, pD 5.1）の気液界面へのレーザー光集光により、集合体の形成と成長・増大、さらに集合体の増大に伴うラマン散乱強度の増加（Fig. 1a）を観測した。ラマン散乱強度の増加より、集光点付近ではリゾチーム濃度が初期濃度の数倍～10 倍へと大きく上昇していることが示唆される（Fig. 1b）。ラマン散乱強度が大きく増加する前にレーザー照射を停止した際には、液滴形成・結晶化促進は見られず、局所的な濃度上昇によりこれらの現象が誘起された事が示唆される。当日はラマン測定結果をもとに、リゾチーム濃度変化と液滴形成・結晶化促進の詳細に関して議論する。

[1]三浦他, 2009 年第 70 回応用物理学会, [2]三浦他, 2011 光化学討論会

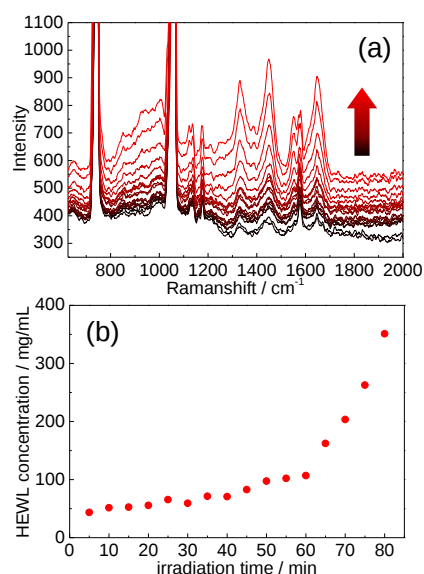


Fig. 1 (a) Raman scattering spectra measured under laser trapping and (b) lysozyme concentration change estimated from Raman intensity.