Why Space Grown Protein Crystals? Why More Perfect? No Clear Answer Yet

Katsuo Tsukamoto

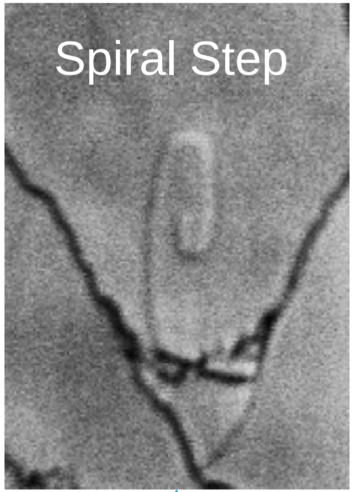
Tohoku University, Sendai, Japan

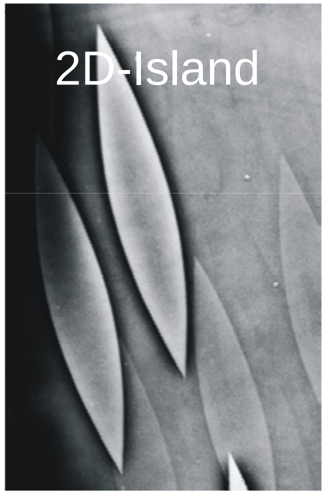
JSF PROGRAM (2005-2007): GROWTH MECHANISM AND PERFECTION OF PROTEIN CRYSTALS

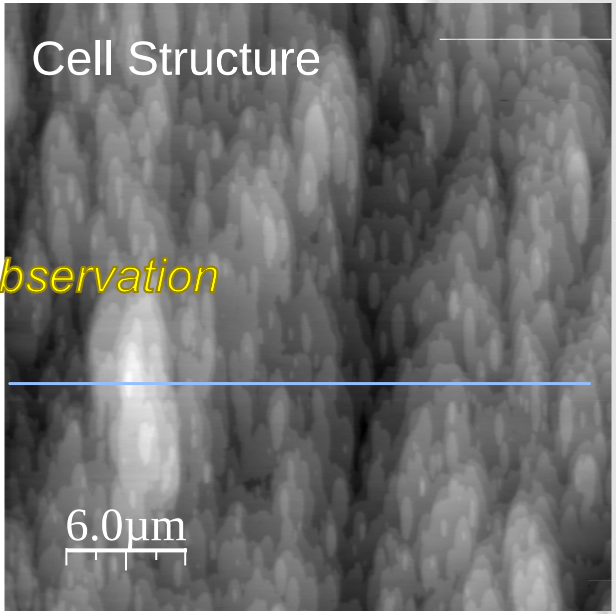
Objectives:

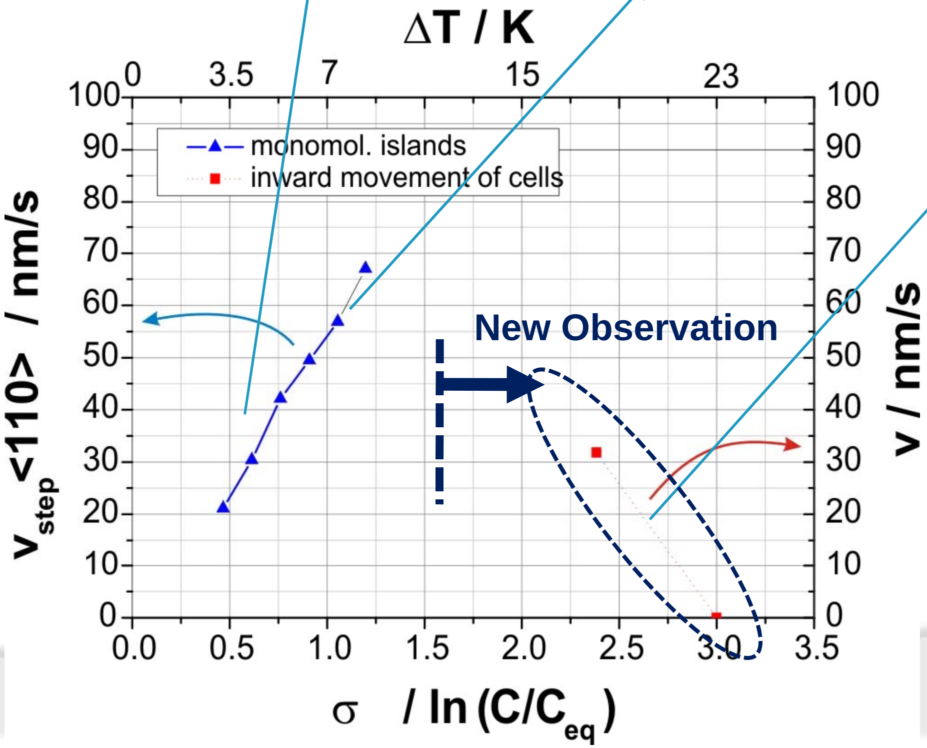
1. Development of In-Situ Observation System for Protein Crystal Growth and Defect Generation. (comparable to AFM)
2. Crystal Growth Mechanism at Very High Supersaturation As Expected in Microgravity Experiments. (no observation yet)
3. Observation of Defect Generation Depends on Crystal Growth Mechanism. (sensitive optical in-situ methods)
4. How Impurities Could be Incorporated to Crystals? (single molecule visualization using florescence labeled molecules)
5. How Perfection would be Improved under Micro-G? (space experiment including parabolic flights)
6. Various Approaches (international collaborations: Granada, Nijmegen, Huston)

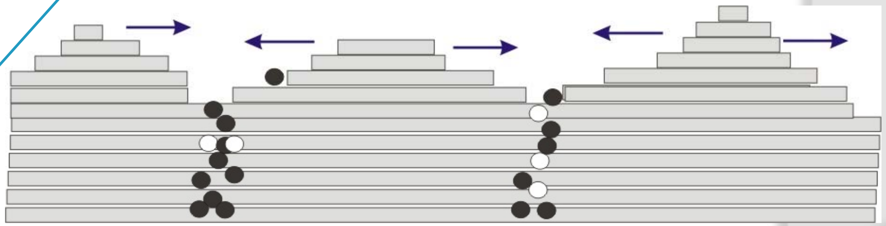
Impurity Incorporation at Very High Supersaturation as Expected in Space Experiment











accumulation of impurities, inclusions, vaccancies etc. at the cell boundaries

Origin of Mosaicity in 1G?

No impurity incorporation

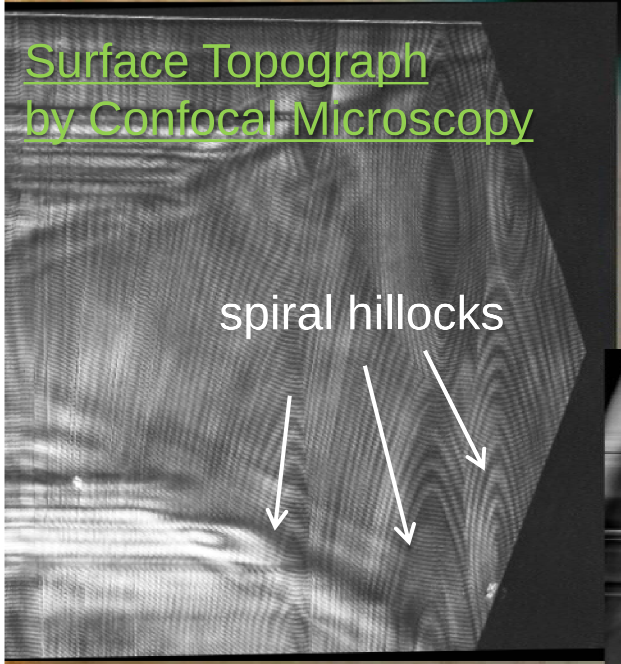
No mosaic in μG!

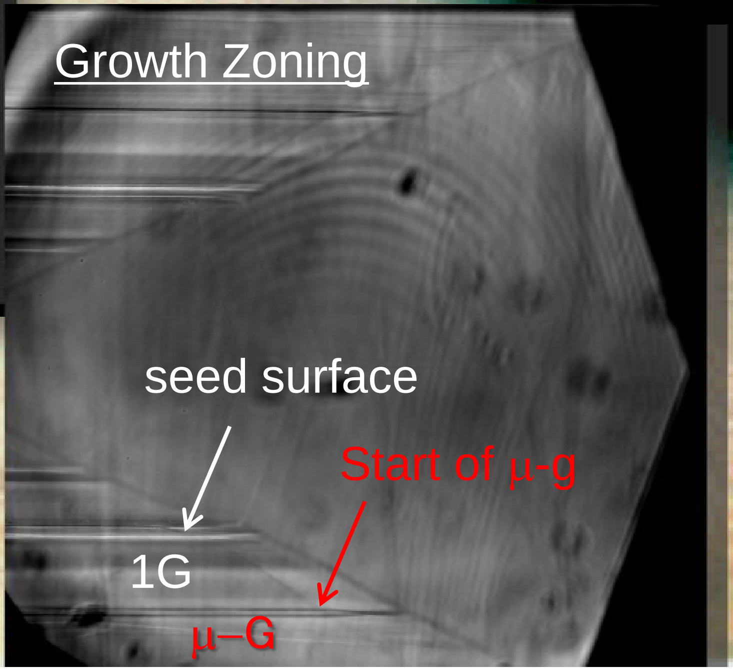
Foton M-3 Experiment

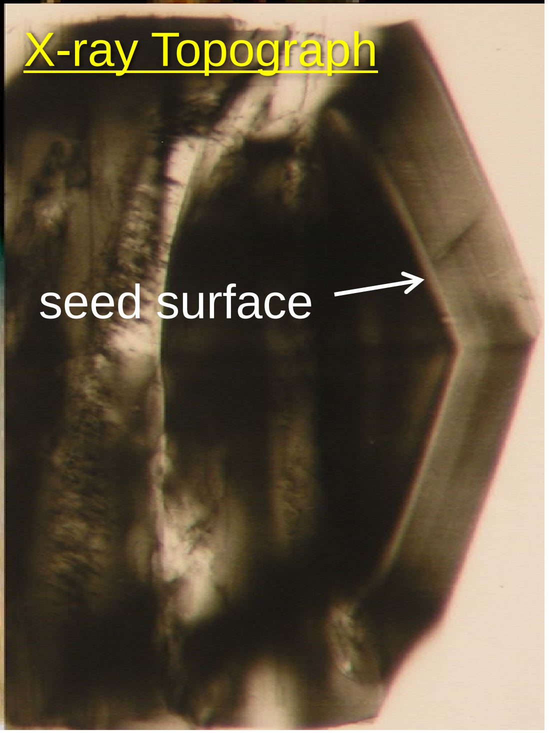
September 2007

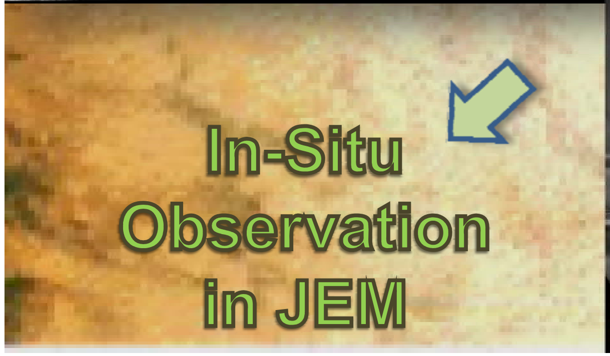
Tohoku University and University of Granada

1. Lysozyme crystals, 2-3 mm in length, could successfully be grown at constant supersaturation.
2. Growth rates at various supersaturation were measured under 1G and micro-G from the same crystals. Both surface kinetics and mass transport are still important under micro-G.
3. Impurity trapping could be observed only under ~1G









ロシアの回収型衛星、FOTON- M3 を利用した宇宙実験について

“なぜ宇宙でタンパク結晶の完全性が向上するか”に対する明快な答えは得られていない。この理由が分かれば地上での技術向上に貢献するはず。この目的のために、多数の物性値が測定されているリゾチーム結晶をモデル結晶として、結晶成長機構と完全性についての研究を行った。これは２００５－２００７年までの JSF による地上公募研究である。研究目的は多数あるが、その場観察装置の新たな開発をおこなって、微小重力でもナノスケールの“その場”観察が行えるようになったのが新しい。

低過飽和での結晶表面や成長メカニズムの研究は多数ある。しかし、宇宙実験で期待できる高過飽和度（成長速度で 2 桁ほど大きい）での結晶成長メカニズム、どのような欠陥ができるかの研究は皆無。そこで、光学的なその場観察を活用して高過飽和度での初めて成長過程の観察がナノスケールで成功した。それによると、高過飽和度ではセル構造が形成される。このことは、右図下にあるような不純物の segregation がセル境界に発達し、モザイク構造などの発達により完全性の低下につながろう。しかし、無重力ではこれらの不純物の溶液中での移動は容易ではなく、セル境界の発達が抑えられ完全性の低下が防がれることが予想される。従って、この不純物吸着と結晶の完全性の完全性を焦点にあてた Foton M3 による実験が 2007 年 9 月に実施された。

この Foton M3 回収型衛星による研究は東北大学とグラナダ大学との国際共同研究であり、ESA と JAXA に支援され成功裏に実施された。非常に簡単な実験装置であるにもかかわらず、次の新しい成果が得られ得られた。宇宙実験は 12 日間であった。

1. 種結晶をもちいて、一定過飽和度で長さ 3 ミリの巨大なリゾチーム結晶を 50 個以上作成。これらの結晶は回収後 2 日後に結晶表面と内部の高分解光学観察、4 日後に TSUKUBA PF での X-線トポグラフの観察が行われた。

2. 同一結晶を用いた 1G とマイクロ G での成長速度の過飽和度依存性が初めて測定された。速度データは誠意解析中。

３．表面観察や X 線ポトグラフの観察により、サブミクロンの不純物粒子だけでなく、ダイマーなどの不純物吸着が微小重力では抑制されることが分かった。これは単に対流が抑制されるためだけでなく、成長ｷﾈｯﾃｨｯｸｽが変化するためでもある。（予備実験で吸着はステップの移動速度と不純物のステップテラスでの滞在時間によることが分かっている。）

これらの研究は今後国際宇宙基地（JEM）でのその場観察による研究に繋がる。