

「極限環境状態における現象」

平成9年度採択研究代表者

安宅 光雄

(生命工学工業技術研究所生体分子工学部 グループリーダー)

「磁気力を利用した仮想的可変重力場における

タンパク質の結晶成長」

1. 研究実施の概要

構造生物学の発展には、良質のタンパク質単結晶の作製が鍵となっている。また重力パラメータはタンパク質結晶の質を支配する例が知られている。本研究では、磁気力を利用して重力値が連続的に変化するような極限環境を創生し、その中でタンパク質を結晶化し、重力値の変化が結晶成長に及ぼすメカニズムを解明するとともに、良質の結晶の合成に役立てる。

計画開始以来、世界で初めてだと思われる「磁気力均一」超伝導マグネットを設計し、最近稼働させた。また、磁気力を用いて、電気伝導性が低い液体の対流を抑制・制御できることを初めて明らかにした。今後、それらの手段がタンパク質結晶の成長に及ぼす効果を解明する。

2. 研究実施内容

(1) 均一磁気力発生超伝導マグネットの設計と製作

本研究の目的、すなわち「鉛直方向の磁気力を重力に重ね合わせることで、仮想的に可変な重力環境を作る」ことを理想的な状態で実現し、さらに磁気力の効果を定量的に評価するためには、均一な磁気力場を発生する超伝導マグネットが必要である。そこで、金属材料技術研究所において、そのようなマグネットの開発を行った。これは、 $\text{grad } H^2/2$ ($= H \text{ grad } H = \text{磁場} \times \text{磁場勾配}$) (なお、磁気力はこの値に比例し、水の場合、この値が $1400\text{T}^2/\text{m}$ であると重力と釣り合う) で定義される磁気力場を試料空間内で均一に制御するような磁石である。

これまで、マグネットの開発において磁気力が主たる設計条件となることはほとんどなく、磁気力場を必要とする実験においても、使用できるのは、磁場を発生する目的で製作されたマグネットで付随的に得られる磁気力利用にとどまっていた。

「磁場」を均一に制御することは、MRIやNMRのマグネット開発の主要課題であり、また、「磁場勾配」を均一とするマグネットも、4極マグネット等の例があ

った。しかし、「磁場×磁場勾配」である「磁気力」を均一に制御するマグネットはこれまで存在せず、まったく新しい取り組みと言える。

さらに、この「磁気力均一マグネット」はタンパク質結晶成長実験に供されるため、1週間程度の長期にわたり、大きな磁気力場を発生する必要があるため、冷媒の補給を必要としない伝導冷却型の超伝導マグネットとして開発した。早期提供と工学的検証を目的として、プロトタイプ1号機は、既存の NbTi 超伝導線材だけを使用し、線材自体の開発は、プロトタイプ2号機以降に活かすという2段階の計画である。図1に、プロトタイプ1号機の模式図と、それを伝導冷却型クライオスタットに組み込んだ状態の外観写真を示す。通常のマグネットと異なり、内側コイル(図1左の coil I) が長いことが特徴の1つである。本マグネットを G-M 冷凍機を設置したクライオスタットで冷却し、電流値 29.5 A で中心磁場 8.7 T、磁気力場 218 T²/m を発生できることを確認した。

計算で予測される均一な磁気力場を発生していることを実証するため、常磁性体であるバナジウムの円筒試料を Z 軸に沿って吊り、各位置での重量を測定することで磁気力分布を実測した。結果が図2である。図2から明らかのように、計算と実測値とはほぼ一致しており、本マグネットの特徴である磁気力場の均一な領域が 40 mm にわたって存在していることが実験的に確かめられた。

このマグネットでタンパク質結晶成長実験を開始した。次の段階として、磁気力場の大きさが 800 T²/m を越える均一磁気力場発生マグネットの開発を既に始めている。

(2) 磁気力を利用した仮想的可変重力場の検出・検証・応用

物質工学工業技術研究所が担当する部分である。磁石の磁場強度分布で、「 $d(H^2)/dz = \text{一定}$ 」なる条件が満たされる場合、磁気力は密度に比例する。本研究では、このような鉛直方向の磁気力を重力と重ね合わせて、液体中で、みかけ上の重力レベルを連続的に制御する。しかし現実のマグネットでは、市販品にみられるように上記条件は成立しないし、垂直以外の磁気力も発生する。

重力はタンパク質結晶の成長過程に重要な対流や結晶の沈降に大きな影響を及ぼす。マグネットの設計段階で対流について予測できれば非常に有効である。マグネットの磁場強度の空間分布が与えられれば、重力-磁場複合場における対流について見積もることができる流体力学的な計算手法を開発した。本プロジェクトで金属材料研が試作した均一磁気力マグネットでは、160T²/m、仮想的重力レベル 0.88 G において、磁場がない場合にくらべ対流の流速が約 12% 減少することを確認した。これは当初の見通しと一致した。

流体力学的数値計算の手法を利用すれば、極端なケース、例えば図3のような水平方向の磁気力が垂直方向に比べ大きい場合についてもシミュレーションが可能で

ある。図3中、(a)は水の入った円筒状容器、(d)は円筒状マグネットと容器の関係、(b)(c)は垂直、水平方向の磁場強度の分布である。このような場合、大きな対流の抑制がみられ、水平方向の勾配磁場の値が局所的に $600\text{T}^2/\text{m}$ (図4でマグネットの中心磁場が 13.8T 、●) でも流速は半減することを発見した。今後、実証実験を行う予定である。対流制御手段が殆どない電気伝導度が低い液体の簡便な対流抑制法として期待される。

さらにタンパク質結晶の成長過程における重力による結晶の沈降現象についても解明した。実験では結晶サイズが数 μm に達すると容器底に沈降することが明らかになり、シミュレーションでも同様な結果が得られた。

(3) タンパク質結晶成長の実験

生命工学工業技術研究所で行うタンパク質結晶成長については、卵白リゾチームという優れたモデルタンパク質のみならず、分子量が大きなタンパク質、鉄イオンを含むタンパク質、遺伝子操作でごく一部を工学的に改変したタンパク質、疎水性の膜タンパク質など、リゾチームと何らかの意味で補い合うタンパク質で結晶を作る体制を整えている。既に、金材研の共同利用磁石(磁気力を均一化する設計ではないが、 10T までの強磁場が発生できる)などを用い、それらの結晶の多くが、磁場中で配向することまで確かめている。タンパク質試料を、生物学的に大きな関心のもたれるものへと拡大していく方向の1つとして、ほ乳類がATP合成に使用している膜タンパク質、ATP合成酵素(膜貫通部分)の精製の研究を博士課程の課題として行ってきた大学院学生をイタリアから招へいした。

3. 主な研究成果の発表(論文発表)

- S. Sakurazawa, T. Kubota and M. Ataka: Orientation of Protein Crystals Grown in a Magnetic Field, *J. Crystal Growth* 196 (1999) 325-331.
- T. Soga, H. Sasaki, M. Tanokura and M. Ataka: Crystal Growth and Solubility Studies of *Aspergillus niger* Acid Proteinase A in the Presence of Both a Salt and an Organic Solvent, *J. Crystal Growth* 196 (1999) 291-296.
- Y. Michinomae, M. Mochizuki and M. Ataka: Electron Microscopic Studies on the Initial Process of Lysozyme Crystal Growth, *J. Crystal Growth* 197 (1999) 257-262.
- M. Tachibana, M. Ataka and K. Kojima: Growth and Mechanical Properties of Lysozyme Crystals, *J. Crystal Growth* 198/199 (1999) 661-664.
- N. Niimura, Y. Minezaki, I. Tanaka, S. Fujiwara and M. Ataka: Polar Structure of Lysozyme Aggregates in Unsaturated Solution Determined by Small Angle Neutron Scattering Contrast Variation Method, *J. Crystal*

他 5 件

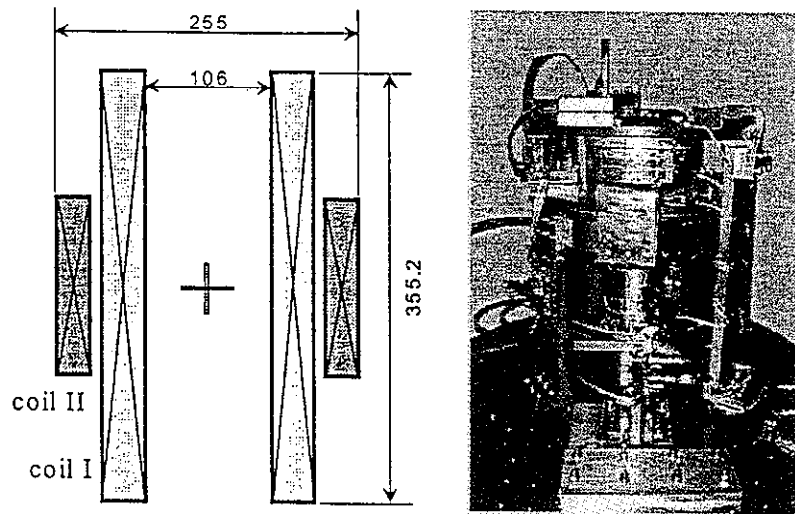


図 1 均一磁気力場発生 NbTi 超伝導マグネットの断面模式図 (左) と伝導冷却型クライオスタット取り付け時の外観 (右)。

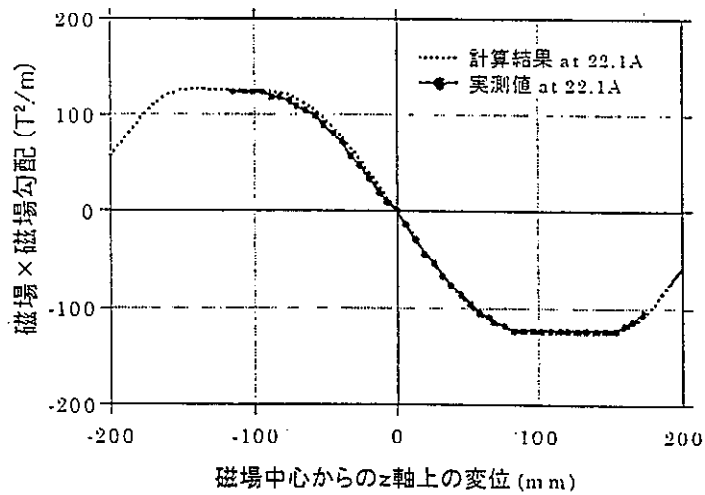


図 2 均一磁気力場発生 NbTi 超伝導マグネットの磁気力場の実測値と計算結果の比較。

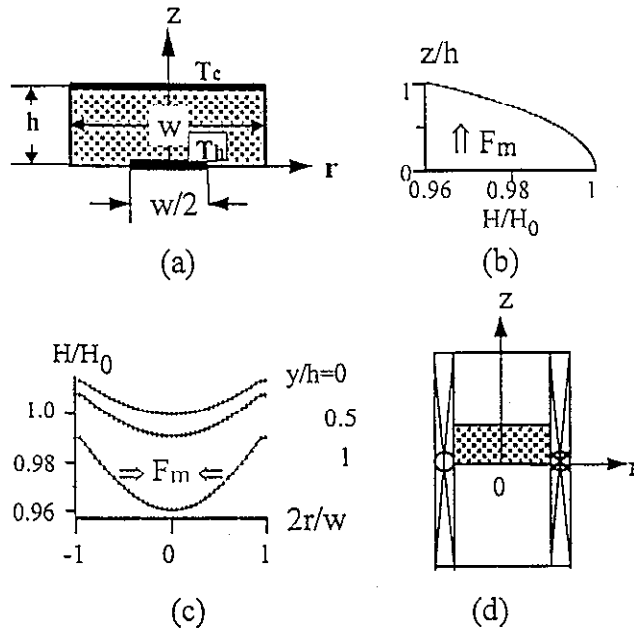


図3 (a) 水の入った円筒型容器の外観。(b) 垂直方向の磁場分布。(c) 水平方向の磁場分布。(d) 円筒状マグネットと(a)の容器との関係。

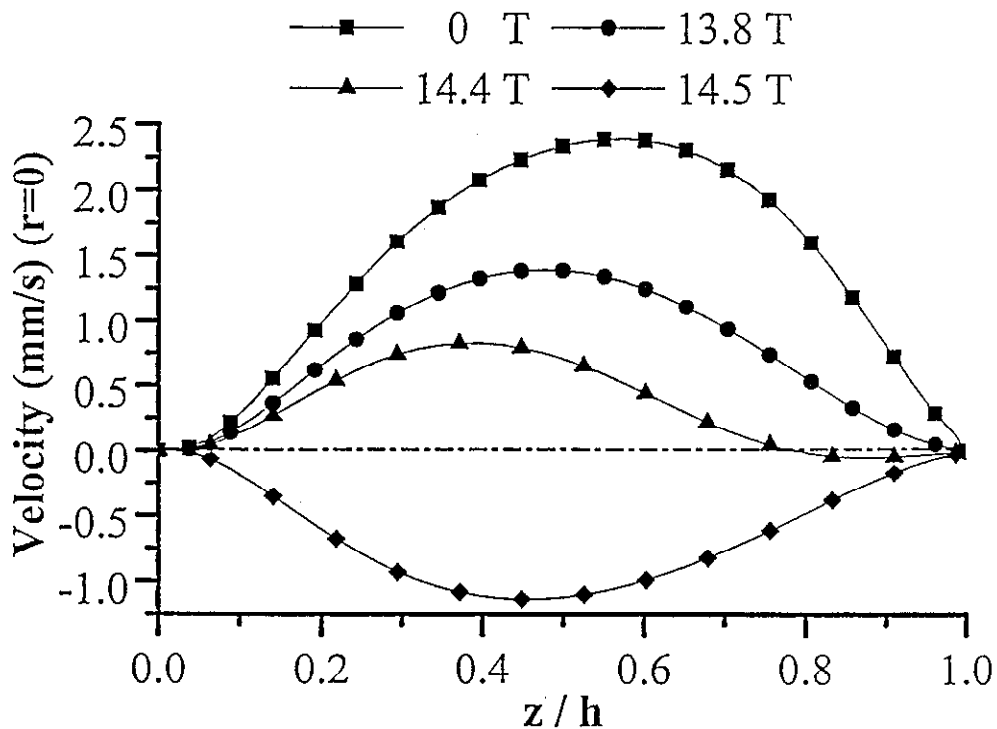


図4 $r=0$ における鉛直線に沿った軸方向流速分布。磁場がない場合(■)および3つの異なる磁場強度($\mu_0 H_0$)の場合。磁場がない場合と比べ、磁場印加によって対流が抑制されていることが分かる。