

「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 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、世界で初めてと思われる「均一磁気力」超伝導マグネットを設計、順調に稼働させ、タンパク質結晶成長に役立てている。また、磁気力を用いて、電気伝導性のない液体、電気伝導性の小さい液体の対流が抑制・制御できることを初めて明らかにした。タンパク質結晶の質に及ぼすそれらの影響を続けて解明する。

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

本研究の目的である「鉛直方向の磁気力を重力に重ね合わせ、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。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本年度も継続した。「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に存在せず、まったく新しい取り組みである。さらに、本マグネットはタンパク質結晶成長実験に供するため、1週間～1ヶ月の長期にわたり大きな磁気力場を発生する必要があり、冷媒の補給を必要としない伝導冷却型超伝導マグネットとして開発を進めた。

均一磁気力場が確実にできることを検証し、かつ結晶成長実験に早く供するため、最初に NbTi 超伝導線材だけを使用したマグネットを製作した。平成10年度には試験用クライオスタットに組み込んだ状態で、電流値 29.5 A で中心磁場 8.7 T、磁気力場 218 T²/m を安定に発生できることを確認すると共に、磁気力の均一な領域が 40mm の長さにわたって存在することを実験的に検証した。続いて本年

度は 50mm 径の室温貫通ボアを有する専用のクライオスタットに組み込み、タンパク質結晶成長実験に対する磁気力場の本格的な提供を始めた。完成したクライオスタットの外観写真を図 1 に示す。本マグネットは極めて順調に稼動しており、8.3T の中心磁場、 $198\text{T}^2/\text{m}$ の均一磁気力場を 6 ヶ月以上にわたり常時発生し続けるなど、タンパク質結晶成長実験に大いに活用されつつある。

Nb₃Sn 導体を使用することで磁気力場の大きさをさらに増加するマグネットの設計と製作にも既に着手した。図 2 にそのマグネットの断面模式図を示す。図のように、5 個のコイルを組み合わせる設計である。本マグネットは、電流値 157 A で中心磁場 17.1 T を発生すると共に、 $880\text{T}^2/\text{m}$ の磁気力場を直径 10 mm、高さ 10 mm の円筒空間内に、軸方向の不均一性 1 % 以下、径方向の不均一性 2 % 以下で発生する設計である。



図 1 クライオスタットに組み込んだ均一磁気力発生マグネット。内径 50 mm の室温ボアが鉛直に貫通しており、6 ヶ月以上順調に連続運転し、タンパク質結晶成長に使っている。

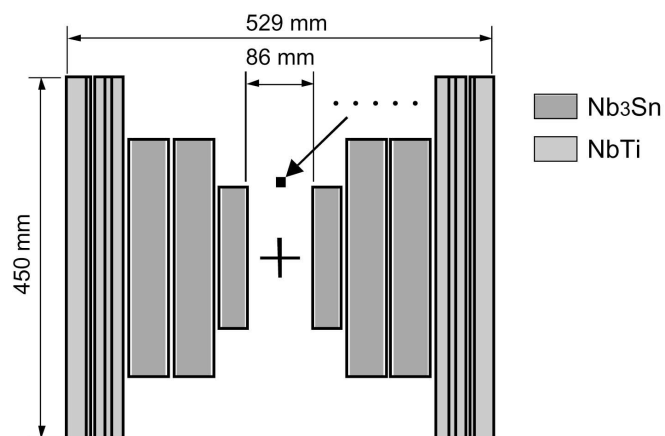


図 2 設計・制作中のマグネットの模式図。8 つの異なる線材からなる 5 個のコイルを組み合わせて大きな均一磁気力場を作る。

(2) 磁気力を利用した仮想的可変重力場の検出・検証・応用

マグネットで $d(H^2)/dz = \text{一定}$ の場合、磁気力は密度に比例する。本研究では、このような垂直上向きの磁気力で重力を相殺し、みかけ上の重力レベルを0から1 Gまで連続的に制御する。しかし現実のマグネットでは垂直方向の磁気力は不均一で、水平方向の力も発生する。さらにタンパク質過飽和水溶液のような電気伝導性のある物質では、ロレンツカも作用する。

これらの影響を見積もるため、前項で設計した均一磁気力発生超伝導マグネットの中の磁場強度分布データ（設計値）を使い、流体力学的な数値計算を実行した。この計算は、磁気力とロレンツカを共に考慮したという点で世界で初めての流体力学的数値計算である。

計算モデルでは直径1 cm、高さ1 cmの円筒形容器を考え、その中の液体の下面の半分（中心部）が22 °C、上面が20 °Cに保たれ、熱対流が発生する（レイリー数 $Ra = 33734$ ）。かなりの電気伝導性を賦与した29%のNaCl水溶液（ $\sigma = 21 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$ ）に $573 \text{ T}^2/\text{m}$ の磁気力を作用させた場合の結果を表 I に示す。磁気力とロレンツカの効果は相乗的で、対流による最大流速は、磁場がない場合の約40%にまで減る。表には、ロレンツカ、磁気力のいずれかだけを考えた場合の最大流速も示してあるが、ロレンツカだけによる対流抑制効果は小さいことが分かる。実際に結晶化に用いるタンパク質水溶液中の塩濃度は3 %程度であり、電気伝導性はさらに1桁小さい。そこで、ロレンツカの効果はさらに小さくなり、磁気力が対流を抑制する。

磁気力を印加することで対流を抑制・制御するという本方法は、今後、タンパク質結晶成長時に用い得るだけでなく、これまで対流抑制手段が知られていなかった金属酸化物、ガラス溶融体などの低伝導性物質の対流抑制にも有効であろうと期待される。

表 I 磁気力とロレンツカによる熱対流の抑制

	磁場なし	ロレンツカのみ	磁気力のみ	ロレンツカ +磁気力
最大流速 (mm/s)	1.12 (100%)	0.99 (88.4%)	0.60 (53.6%)	0.49 (43.8%)
ヌッセルト数 Nu	2.44	2.25	1.71	1.53

注：ヌッセルト数（無次元）は、対流および熱伝導により移動する熱量の比

(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は、均一磁気力発生超伝導マグネットが本格的に使用可能となったので、これを用いて磁場と磁気力がタンパク質結晶成長に及ぼす影響を調べるための実験を開始した。種々のタンパク質試料を扱うことで、磁場とタンパク質との相互作用を多面的に把握することが生命研としての使命の1つと考え、それぞれ特徴のあるタンパク質試料を用意している。本年度の報告では、扱える体制を整えつつあるタンパク質結晶の様子を写真で紹介する。

これらの結晶の多くは磁場中で配向する。この磁気配向効果は最も分かりやすい現象であり、かつ、タンパク質結晶を配向できる他の手段は極めて限られていたので、まず配向についての結果を示してある。しかし、磁場の影響と磁気力の影響とを区別して論じること、それらが結晶の質の向上に及ぼす影響を調べることは、本計画の大きな目標の1つであり、全体像を明らかにすべく研究を進めつつある。ただし平成11年度を終わった段階では明確に文字にできるところまでは達していない。

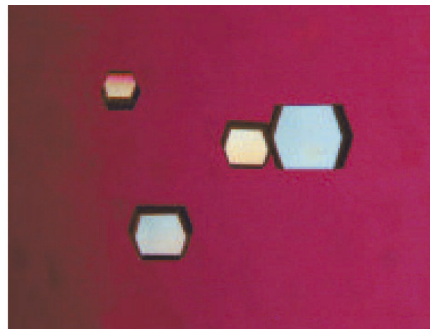


図3 リゾチーム（卵の白身の中で防御・殺菌を担う酵素）正方晶。c軸が磁場と平行（紙面内左右の方向；図7まで同じ）に配向する。図3～図6は、同じタンパク質を用い、結晶化条件を制御すれば、別の結晶を作れるという例として提出する。それぞれ磁場に対する応答は異なっている。

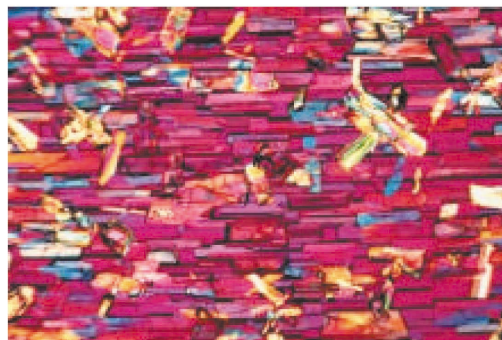


図4 リゾチーム斜方晶。温度を40℃にまで上げることで成長させることができる。1つの軸が磁場と平行に配向している。

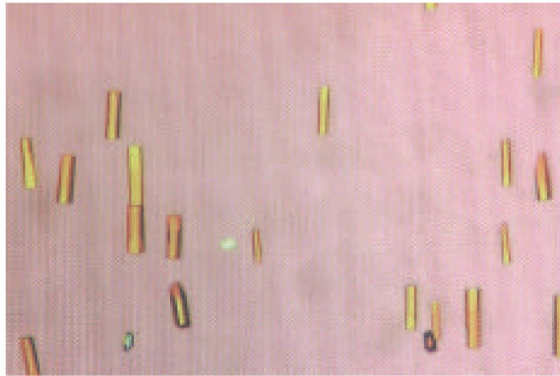


図5 リゾチーム単斜晶。添加塩をNaClからKSCNに変えることで得られる。2回軸が磁場と垂直に配向している。

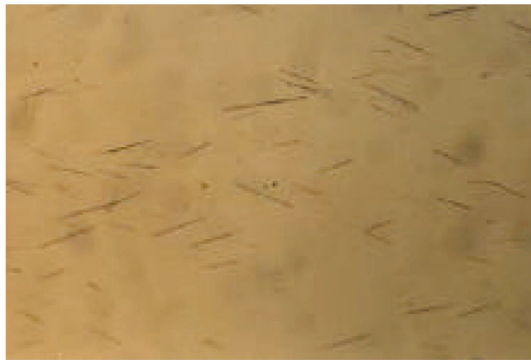


図6 リゾチーム三斜晶。添加塩NaClの濃度を極端に上げ、かつシーディングを行うと作ることができる。結晶の長軸と磁場とは約20°傾いている。

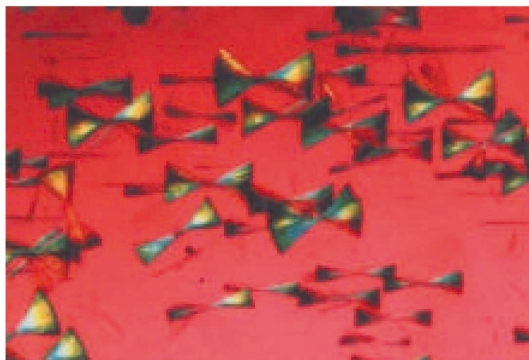


図7 クロコウジカビ(薩摩焼酎を作るときに使う微生物)の生産するタンパク質分解酵素の斜方晶。等電点がリゾチームとは反対に酸性側(pH 3程度)にあるタンパク質である。通常の生育条件(pH中性付近)における、このタンパク質の機能は必ずしも明確でない。図7、9、10のタンパク質の分子量は数万以下で、図8のものは約14万である。リゾチームとは何らかの性質が異なり、他の性質は類似であるようなタンパク質を選んでいる。

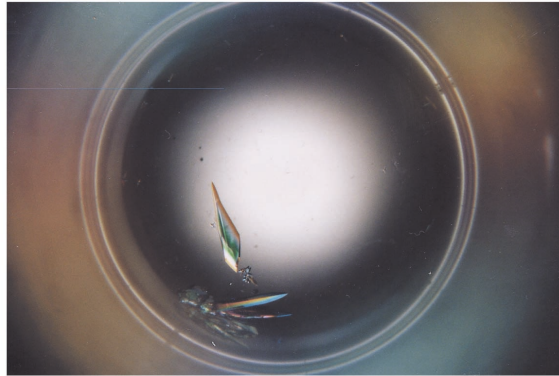


図8 中国産のヘビ由来のフルクトース・ビスリン酸化酵素。三方晶。分子量は約14万で、リゾチーム(分子量約1.4万)に比べ大きい。体内における糖の合成サイクルに関与し、広い意味では糖尿病の治療にも関係する。構造解析は進行中で、まだ発表されていない。

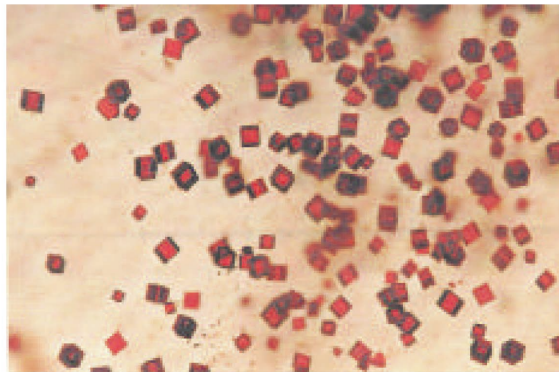


図9 ウマのチトクロームc六方晶。呼吸というエネルギー生産反応において電子伝達を行う。鉄原子を含むヘムという原子団をもつ。その鉄は酸化・還元の両状態をとることで電子伝達機能を果たす。構造解析は終わっているが、質の良い結晶を得て構造をさらに精密化することには生物学的な意義が認められる。

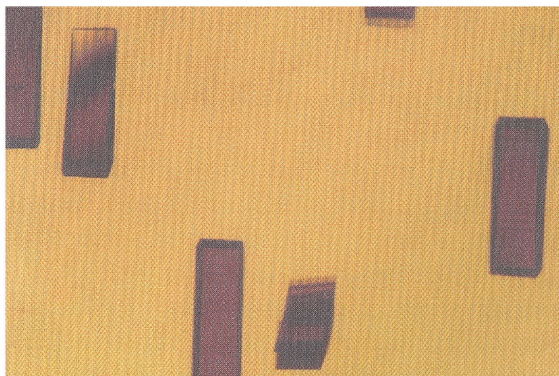


図10 マッコウジラ由来のミオグロビン単斜晶。やはり鉄を含む。酸素貯蔵を行うことが機能である。左右方向にかけた磁場に対して垂直に配向している。

3 . 主な研究成果の発表（論文発表）

B. Bai, A. Yabe, J. Qi and N. I. Wakayama: Quantitative Analysis of Air Convection Caused by Magnetic- Fluid Coupling. AIAA J. 37(1999)1538- 1543.

T. Kiyoshi et al.: Generation of 23.4 T Using Two Bi- 2212 Insert Coils. IEEE Trans. Applied Superconductivity 10(2000)472- 477.

K. Izumi, K. Taguchi, Y. Kobayashi, M. Tachibana, K. Kojima and M. Ataka: Screw Dislocation Lines in Lysozyme Crystals Observed by Laue Topography Using Synchrotron Radiation. J. Crystal Growth 206(1999),155- 158.

S. Tanaka, K. Itoh, R. Hayakawa and M. Ataka: Size and Number Density of Precrystalline Aggregates in Lysozyme Crystallization Process. J. Chem. Phys. 111 (1999)10330- 10337.