

蛋白質の結晶化は神に対する挑戦か？

小松 啓(岩手県立大学)

蛋白質も普通の無機物と同じ様式で成長し溶解することは今では常識になっている。しかし、ほんの10数年前まではこれは常識ではなかった。蛋白質は生命現象にかかわる分子で、結晶にターミナルサイズがあり、一定以上の大きさにはならない。通常物質とは違う独特の結晶の仕方がある、などといわれた。

ところが、1992年にサンディエゴで開かれた第10回結晶成長国際会議(ICCG-10)の特別講演の席上で、Steve DurbinがAFM(原子間力顕微鏡)によるリゾチームの渦巻成長を動画で示した。聴衆から感嘆のどよめきがあがった。なあんだ、蛋白質はらせん転位を媒介にした成長もする、普通の結晶だという強い印象を受けた。

それまで、蛋白質を中心にした生体高分子の結晶成長の国際会議(ICCBM)は1985年から2年ごとに各国持ち回りで、開催されていた。溶液成長の研究のアナロジーで蛋白質の結晶成長機構を理解する試みは当然としても、結果の報告はもどかしく、成長機構を解析する上で決定的なものに欠けていた。Durbinの観察はそれまでの漠然とした雰囲気を一気に吹っ飛ばした。

しかし、蛋白質はなかなか複雑で、成長の駆動力である過飽和度一つをとっても、無機塩の100倍程度必要である。その理由もまだわかっていない。渦巻成長が見つかったとしても転位はまだきちんと観察されていない。やはり並みの物質ではないことを経験したのがその後の10年である。

まず、普通の物質と違って、扱える量が極度に少量で、しかも寿命がある。純度も半導体などに比べて桁違いに悪い。生化学者でないわれわれが扱える蛋白質は限定される。それで、文句をいわれながらもリゾチームを主な手がかりにして研究を進めてきている。

その際、光学顕微鏡を主な道具とし、光散乱やAFMと組み合わせることが有効であった。顕微鏡は系を乱さず簡単に使える。拡大により、微量の試料で済む上、成長や溶解の速度が僅かであっても検知でき、量、時間、空間の節約ができる。さらに光干渉法が重ねて使えるので、現象によっては高精度の定量測定も可能である。攻撃目標を絞ってAFMを使いマクロとミクロをつなぐこともできる。

いったい何がどこまで判れば、蛋白質の良質結晶を得ることが出来るようになるのだろうか？ここで、羅列して見よう。

結晶成長機構の分子レベルの理解に限っても、試料の純度、状態図（塩の濃度、pH、温度の3元系相図）、溶液の構造（クラスター、オリゴマーなどの状態、成長単位のキルクでの回転拡散）、成長層（ステップエネルギー、カイネティック係数、キルクサイトのボンド状態）、脱溶媒和エネルギー、輸送定数（水和分子の拡散速度、動粘係数）、不純物の分配係数、などがある。

核形成はもっと未知で、満足な理論さえない。活性化エネルギーも完全には見積もれない。核形成制御に関連したエピタキシーの研究も手薄である。核形成に引続く成長で欠陥はどのようになるのだろうか。最適成長速度はどれだけか、などと、知りたいことがいっぱいである。結晶の品質と成長条件を一对一で完全に対応させることにはほど遠い。

このような蛋白質の特殊性はアミノ酸のポリペプチド鎖の多様性（非対称性）から生まれる“異方性”にあると考えている。すなわち、蛋白質分子の形の異方性、分子間の結合サイトの多様性、分子表面のチャージが多様でパッチ状になっていることである。そのため、溶解度も3つ以上のパラメーターが組み合って変化し、水和状態も多様になり、結晶成長に必要な高濃度になるほど凝集体が生じやすい。そのような溶液から成長単位のタンパク質分子が拡散してキルクサイトまで来ると、回転して、母結晶と同じキルクの配置をとり脱溶媒和して弱い結合力で結晶に収まる必要がある。

このような事情は、対称性の高い原子が共有結合するシリコン結晶では考えられない。メルトの構造が不完全にしかわからなくても、これまで高純度で完全結晶の巨大結晶が育成できたのと対照的である。

もともと神様は、簡単に結晶化してポテンシャルがミニマムになるような物質で生命を造らなかつた。蛋白質の結晶化は神の知恵に対する恐れを知らぬ挑戦であるかもしれない。