

||||| 特集：産学官の連携による協力・スピンオフ技術 |||||  
(解説)

## ISS を利用した高品質タンパク質結晶生成実験の応用利用

高橋 幸子<sup>1</sup>・佐野 智<sup>2</sup>・佐藤 勝<sup>2</sup>・広田 恵理華<sup>1</sup>・古林 直樹<sup>3</sup>  
 殿 斌<sup>1</sup>・小林 智之<sup>2</sup>・伊中 浩治<sup>3</sup>・田仲 広明<sup>1</sup>・田中 哲夫<sup>2</sup>

### Useful Results of JAXA Protein Crystal Growth Experiment in ISS

Sachiko TAKAHASHI<sup>1</sup>, Satoshi SANO<sup>2</sup>, Masaru SATO<sup>2</sup>, Erika HIROTA<sup>1</sup>,  
 Naoki FURUBAYASHI<sup>3</sup>, Bin YAN<sup>1</sup>, Tomoyuki KOBAYASHI<sup>2</sup>, Koji INAKA<sup>3</sup>,  
 Hiroaki TANAKA<sup>1</sup> and Tetsuo TANAKA<sup>2</sup>

#### Abstract

Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) has launched “High Quality Protein Crystal Growth” (JAXA PCG) experiments using Protein Crystallization Research Facility (PCRF) in Japanese Experiment Module ‘Kibo’ (JEM) in the International Space Station (ISS) since July, 2009. In the course of JAXA (NASDA)-GCF and JAXA-NGCF from 2003 to 2008, we experienced more than 300 protein crystallization experiments in microgravity, and developed techniques to make the best use of microgravity environment for obtaining high-quality protein crystals. In this report, we introduce some of these techniques which can be applied to the crystallization experiment on the ground, and some crystallization results which are expected to contribute to the social demand.

#### 1. はじめに

2009年7月、宇宙でのタンパク質の高品質な結晶生成を目指した、タンパク質結晶生成実験 (JAXA PCG) (Fig. 1) の試料が、カザフスタン共和国のバイコヌール基地からロシアのプログレス補給船で、国際宇宙ステーション (ISS) に向けて打ち上がった (Fig. 2)。「きぼう」船内実験室のタンパク質結晶生成装置 (PCRF) (Fig. 3) での、第1回の実験である。JAXA PCG では、2012年までは半年に1回、計6回の宇宙実験を計画している。

JAXA は、この「きぼう」でのタンパク質結晶生成実験に先立ち、2003年から2008年の間に、ISS 内ロシアサービスモジュールを利用したタンパク質結晶生成実験 (JAXA (NASDA)-GCF および JAXA-NGCF) を、9回実施し、延べ300種類以上のタンパク質の結晶化を行ってきた<sup>1)</sup>。このタンパク質結晶生成実験は、ISS での実験成果を産業へ応用利用するために作られた枠組みの実験計画の1つである。このため、これまで9回の実験で、効率的な宇宙実

験実施のための体制の整備を行うとともに、微小重力環境下でのサブÅ (1 Å 以下) レベルの結晶生成を確実に成功させるための、様々なノウハウを積み重ねて来た。これらの技術は、宇宙実験だけでなく、地上での結晶生成にも十分に役立つものである。また、将来的な外部への事業の移管を視野に入れ、従来よりも高密度化した結晶生成セルを開発することにより、比較的、低コストでの実験機会の提供を可能としている。

本稿では、これまでの高品質タンパク質結晶生成実験で培われた、様々な応用利用可能な技術を紹介するとともに、これまでに得られた、社会的意義の高いタンパク質の構造解析の実例をいくつか紹介したい。

#### 2. 微小重力環境下でのタンパク質結晶生成のための技術

##### 2.1 なぜ微小重力環境下での結晶化なのか

タンパク質の結晶を用いて X 線による回折データを取得することにより、電子密度図を作成し、タンパク質分子

1 ㈱コンフォーカルサイエンス 〒101-0032 東京都千代田区岩本町2丁目12-2 第2早川ビル7階  
 Confocal Science Inc. Hayakawa 2nd Building 7F, 2-12-2 Iwamoto-cho, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0032, Japan  
 2 ㈱宇宙航空研究開発機構 〒305-8505 茨城県つくば市千現2-1-1  
 Japan Aerospace Exploration Agency, Tsukuba Space Center, 2-1-1, Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-8505, Japan  
 3 ㈱丸和栄養食品 〒639-1123 奈良県大和郡山市筒井町170  
 Maruwa Foods and Biosciences Inc., 170 Tsutsui-cho, Yamatokoriyama, Nara 639-1123, Japan  
 (E-mail: takahashis@confsci.co.jp)

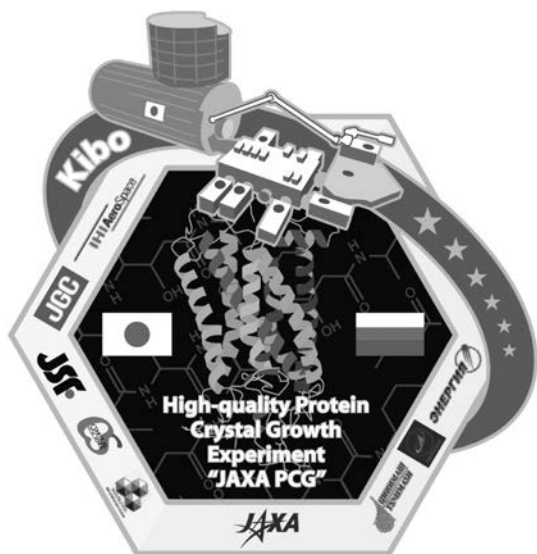


Fig. 1 JAXA PCG Logo.



Fig. 2 Progress Cargo was launched from Baikonur Cosmodrome. (© FSA)

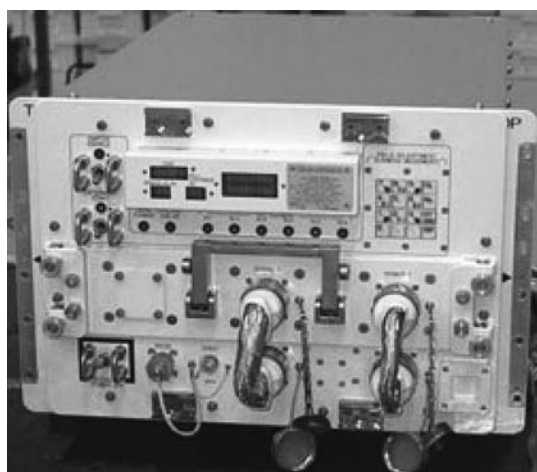


Fig. 3 Protein Crystallization Research Facility (PCRF) was installed in Japanese Experiment Module “Kibo”. (© JAXA)

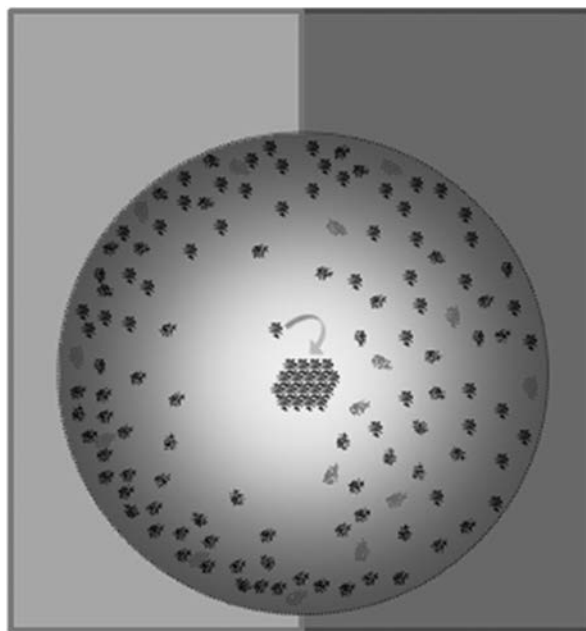


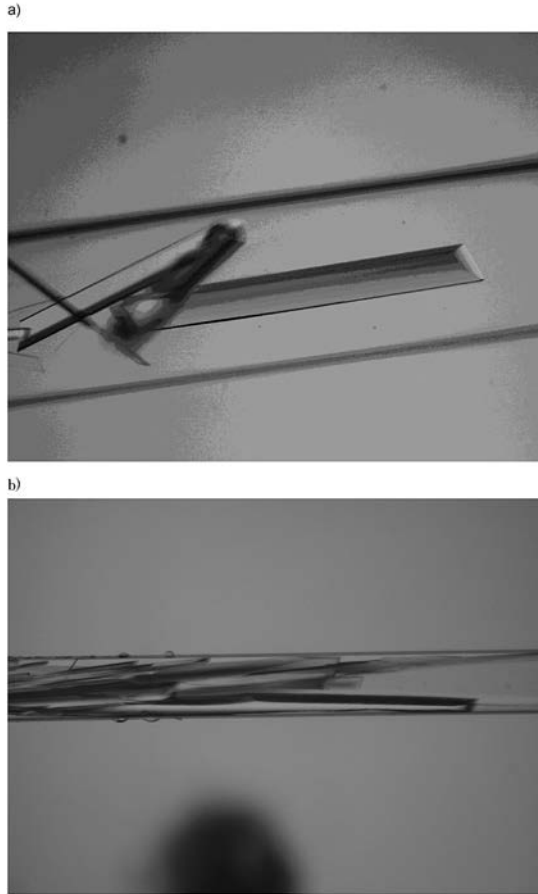
Fig. 4 Diffusion field in microgravity (left) and on the ground (right). Black: protein molecule, gray impurity molecule.

の3次元立体構造を知ることができる。その立体構造が明らかになれば、タンパク質の生体内での反応機構の解明や、新たな医薬品の分子設計が可能となる。このとき、結晶の品質が高いほど、対象タンパク質の詳細な電子密度図が得られる。しかし、一般的に、良好な結晶を得るための技術は十分に確立しておらず、結晶の生成確率は3割程度を言われている。このため、結晶生成は、構造解析を行うためのボトルネックの1つとなっている<sup>2)</sup>。

良質な結晶の成長を妨げる結晶周辺の密度差対流は、重力の影響で発生するが、微小重力環境下ではこれが抑制される。その結果、結晶周辺に、タンパク質ならびに不純物の濃度欠乏層 (Protein Depletion Zone (PDZ), Impurity Depletion Zone (IDZ)) が形成され、保持されることになり、より低過飽和度で、かつ、より不純物が少ない条件での結晶成長が可能となる (Fig. 4)<sup>3)</sup>。また、地上の結晶生成では時折見受けられる、結晶表面での2次的な核成長による結晶のクラスター状の成長も、結晶周辺が低過飽和度になることで抑制される (Fig. 5)<sup>4)</sup>。したがって、微小重力環境を利用してタンパク質の結晶生成を行うと、質の高い単結晶が得られ易いと考えられる。

## 2.2 微小重力環境を生かした結晶化条件

地上実験で結晶が生成していないタンパク質試料や結晶化条件を用いて宇宙実験を行っても、宇宙での結晶生成は期待できない。なぜならば、結晶の初期発生時の核の大きさは、分子十数個~数十個という、重力の影響を受けない小さな領域であるからである<sup>5)</sup>。それよりもむしろ、地上ですでに結晶が生成している結晶化条件を用いて、前項の



**Fig. 5** Alpha-amylase crystals were grown in space (a) and on the ground (b). (© JAXA)  
The crystal grown in microgravity was a beautiful single crystal, but the one grown on the ground formed a cluster shape.

メカニズムによる低過飽和度での結晶生成に期待し、宇宙実験で結晶の品質の向上を目指す方が、確実性が高く、微小重力環境の利点を生かすことができる。

宇宙実験を行う前には、まず地上実験で結晶化条件を検索するが、もし微小重力環境の特徴を生かす条件がわかれば、結晶化条件の有力な候補として検討することができ、より効率のよい結晶化条件の探索が可能となる。われわれは、成長結晶を球と仮定した簡単なモデルを想定し、PDZの形成を推測するために以下のようなDriving Force Ratio ( $DFR$ )を、また、IDZの効果を推測するために Impurity Ratio ( $IR$ )をそれぞれ定式化した<sup>6)</sup>。ここで、 $DFR$ 、 $IR$ ともに、値が低い方が、Depletion Zone (DZ)による効果がある。

$$DFR = \frac{DF_{0G}}{DF_{1G}} = \frac{C(R) - C_e}{C(\infty) - C_e} = \frac{1}{1 + \frac{R \cdot \beta}{D}}$$

$$IR = \frac{IUR_{0G}}{IUR_{1G}} = \frac{1 + \frac{R \cdot \beta}{D}}{1 + \frac{R \cdot \beta_i}{D_i}} = \frac{1 + \frac{R \cdot \beta}{D}}{1 + A \cdot \frac{R \cdot \beta}{D}} \quad \text{ただし, } A = \frac{\beta_i \cdot D}{\beta \cdot D_i}$$

これらの式から、 $D/\beta$  (タンパク質分子の拡散係数/結晶へのタンパク質分子取込み係数)の値が小さくなるような結晶化条件に設定するほど、PDZおよびIDZの効果が大きいことが分かる。すなわち、PDZおよびIDZの形成を、より確実にするような実験条件は、「結晶化溶液のタンパク質分子の拡散係数 ( $D$ ) が小さく」、「タンパク質分子の結晶への取り込み係数 ( $\beta$ ) が大きい」結晶化条件となる。

したがって、宇宙実験向け結晶化条件検討の際には、できるだけ高粘度の結晶化試薬を用いることにより  $D$  を小さくし、また、タンパク質試料の純度を高めることにより  $\beta$  を大きくなるようにした。また更に、以下の検討を進め微小重力環境での効果的な条件検討のための技術の開発を進めてきた。

- (1)  $D/\beta$  を、粗くではあるが、簡単に見積もる方法を開発し、事前に宇宙実験の効果のある程度予測できるようにした<sup>7)</sup>。
- (2) タンパク質試料の純度と  $\beta$  との対応関係を明らかにした。
- (3) 高粘度結晶化試薬であるポリエチレングリコール (PEG) 類の適用範囲を広げられるように、PEG 類使用時の溶液条件の最適化方法を考案した<sup>8)</sup>。

ここでは、(1)および(2)についてもう少し詳しく説明したい。(3)は他稿をご参照いただきたい。

### 2.2.1 $D/\beta$ の見積り

タンパク質分子の拡散係数 ( $D$ ) は、分子量の1/3乗の逆数に比例し、溶液の粘性が増大することにより減少する。このため、塩類や有機溶媒よりも、粘性の大きなPEG系の結晶化試薬の方が、 $D$  を、より小さな値にすることができる。われわれは、対象タンパク質の分子量、共存PEGの分子量と濃度、共存グリセリンの濃度から、 $D$  を推定する近似式を、実測値をもとに考案した<sup>7)</sup>。

$$D_{\text{Protein}} = 10^{\left(\frac{-1}{3} \log(M_{Pr}) - 8.6\right)} \times f$$

ただし、

$$f = \left[ \exp \left( (0.047 \ln(M_{PEG}) - 0.2751) \times c_{PEG} \right) \right]^{-\gamma},$$

$$\gamma = \frac{8.55}{\sqrt[3]{M_{Pr}}} \times \log \left( \frac{M_{PEG}}{64} \right) - 1$$

一方、 $\beta$  は、結晶の成長速度の係数であり、結晶成長速度はタンパク質の濃度に比例して大きくなる。 $\beta$  を求める方

**Table 1** Improvement of crystal quality was achieved by decreasing  $D/\beta$ 

Protein	Strategy		Maximum resolution (Å)	$D/\beta$ (mm)
	High viscosity of precipitant solution	High purity of protein sample		
Alpha-amylase	○	○	2.1 ⇒ 0.9	0.12
Lysozyme	○*	○	1.4 ⇒ 0.9	1.93
NYHY	—	○	1.8 ⇒ 1.1	0.55
H-protein	—	○	1.0 ⇒ 0.7	2.40
H-PGDS	○	○	1.8 ⇒ 1.2	0.39
L-PGDS	○*	○	2.0 ⇒ 1.0	0.55

The crystal quality was indexed by the maximum resolution of the X-ray diffraction.

\*: High-viscous crystallization solution was searched for space experiment.

法は、従来は原子間力顕微鏡 (AFM) を利用する等、実用構造解析で通常取り扱うような、微量なタンパク質試料には適用できなかった。そこで我々は、精度はある程度犠牲にして、簡便に見積もる方法を考案した<sup>7)</sup>。

すなわち、タンパク質結晶が成長を始めたときから (目で微結晶を確認)、最終寸法の1/2になるまでの時間を経時観察で求め、このほか、初期濃度と結晶の大きさ (できれば成長終了後の残存タンパク質濃度も) から、粗くではあるが、簡便に  $\beta$  を見積もる推定式を考案した。

$$\beta = \frac{0.515 \times 1000 nR(\infty)}{t_{1/2}(C(0) - C_e)}$$

この式から、簡単な予備実験で、 $D/\beta$  を見積もることができるようになった。実際に、結晶化条件を意図的に PEG 条件にして、 $D$  を小さくし、かつ、タンパク質試料を極限まで均一化して、 $\beta$  を大きくすることにより (2.2.2 項参照)、 $D/\beta$  を小さくすれば、宇宙実験の効果をもより高められる。したがって、可能であれば、結晶化条件の宇宙実験向け最適化の際には、この観点から結晶化条件の調整を行っている。実際に  $D/\beta$  を小さくして、最高分解能を指標とした結晶の質が改善された、いくつかの例を **Table 1** に示す。

### 2.2.2 タンパク質試料の純度と $\beta$ との対応関係

均一性の高い試料とそうでないタンパク質試料の結晶化における  $\beta$  を見積ったところ、均一性の高い試料は  $\beta$  が数倍大きくなることが分かった (**Table 2**)。逆に言えば、成長が遅い結晶の場合、試料の均一性を改善することで、成長が速くなる可能性があるということである。さらに、おそらく、均一性が高い試料では、もともと  $\beta$  が高いうえに、拡散場による不純物のフィルタリング効果が働き、実際の微小重力環境での結晶成長では、 $\beta$  の値が更になくなるという相乗効果が働いているのではないかと思われる。

**Table 2**  $\beta$  value in various crystallization conditions

Crystallization condition	$\beta$ value	
	Highly purified protein	Crude protein
20 mg/ml, protein 0.7 M NaCl, 50 mM AcONa, pH 4.5	0.45 ± 0.14 mm/s	0.22 ± 0.04 mm/s
20 mg/ml, protein 0.7 M NaCl, 30% PEG4000, 50 mM HEPES, pH 7.0	0.52 ± 0.12 mm/s	0.18 ± 0.05 mm/s

る。実際、塚本らは欧州の宇宙実験機会を用いて、このような現象を確認している<sup>9)</sup>。なお、地上実験で結晶化溶液をゲル化して結晶化しても、同様の考え方は期待できるはずである<sup>10)</sup>。

## 3. 社会的意義の高いタンパク質の構造解析の実例

微小重力環境に適した結晶化条件を用いることにより、宇宙実験で高品質なタンパク質結晶が得られるようになってきている。

これまで、2003年から2008年にかけて行われた JAXA (NASDA)-GCF および JAXA-NGCF で得られた、社会的に意義の高い、産業への応用が期待されるタンパク質構造解析の実例、および JAXA PCG で結晶生成を実施している例をいくつか挙げたい。

### 3.1 H-PGDS

大阪バイオサイエンス研究所裏出らの、造血器型プロスタグランジン D 合成酵素 (H-PGDS) は、おもに肥満細胞や Th2 細胞に存在し、アレルギー伝達物質であるプロスタグランジン D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) を産生する。PGD<sub>2</sub> は、喘息や Duchenne 型筋ジストロフィー増悪の原因物質となるため、H-PGDS の特異的な阻害剤は、これらの疾病の治療薬候補となる。

裏出らは、H-PGDS に様々な阻害剤を結合させた複合体を宇宙で結晶化させ、最高分解能 1.1 Å の高品質結晶を生成している<sup>11)</sup>。これは、これまで報告されているこのタンパク質の結晶としては、最高レベルの分解能であり、また、地上実験とは異なりクラスター化が抑制されていた。結晶化の際には、PEG 6000 を結晶化試薬として用い、タンパク質試料は Mono-Q HR5/5 クロマトグラフィーで高度に精製した。その結果、宇宙実験に向けた結晶化条件かどうかの指標となる  $D/\beta$  が 0.39 (mm) であり、微小重力環境が有効に働いたと考えられる (Table 1 参照)。

これら宇宙実験で生成した結晶を用いた、H-PGDS と様々な阻害剤の複合体の構造解析から、タンパク質と阻害剤の結合様式が明らかになりつつある。これらの阻害剤は、現在、抗アレルギー薬および抗炎症薬の創薬ターゲットとして解析が進められている。また、得られた構造情報

から、さらに阻害活性の高い化合物の設計も進められている。

### 3.2 PBP

横浜市立大学の朴らにより、ペニシリン結合タンパク質 (PBP) の構造解析が行われた。ペニシリン結合タンパク質は、バクテリアの細胞壁を構成する、ペプチドグリカン層の合成・分解を担っているが、朴らは、特に、インフルエンザ菌 (インフルエンザに罹ったときに2次感染しやすい細菌) のPBPと、その働きを阻害する化合物の複合体の構造解析を行った。その化合物は、インフルエンザ菌の細胞壁合成を阻害することにより、インフルエンザ菌の増殖を抑制する働きがある。朴らは、PBPと阻害剤複合体の構造解析から得られた構造情報から、より活性の高い新規化合物を考案し、現在、医薬品の開発に向けて準備が進められている。

### 3.3 NYHY

兵庫県立大学の樋口らは、ナイロン合成時の副産物オリゴマーを効率よくモノマーにする、ナイロンオリゴマー分解酵素の構造解析を、非常に高分解能な宇宙結晶で進めており、酵素の活性発現機構が解明されつつある。これをもとに、さらに活性の高い酵素の設計が進められている。

### 3.4 セルラーゼ

セルラーゼは、植物細胞の細胞壁や繊維の主成分であるセルロースを分解し、糖に還元する加水分解酵素である。したがって、セルロースをセルラーゼで分解することにより得られる糖を、発酵させて産生するアルコールをバイオエネルギーとして活用することができる。現在、市場に流通している、バイオエネルギーは、とうもろこしなどの食物を主原料として生産されているが、地球上に大量に存在するバイオマスに含まれるセルロースを原料としてバイオエネルギーの生産ができれば、エネルギー問題の解決に大きく貢献できると考えている。また、現状でのバイオエネルギーの生産方法は、化学処理により食物を分解する方法が主流であり、生産の過程で出る様々な廃棄物が問題となっている。一方、セルラーゼのような酵素を利用した生産方法では、危険な廃棄物を出さないため、環境に優しい手法でバイオエネルギーを生産する方法として期待されている。

株丸和栄食品の伊中らは、*Aspergillus niger* 由来セルロースを宇宙で結晶化し、0.96 Å 分解能での構造解析に成功した。これまで報告されているこのタンパク質の立体構造の分解能は2 Å程度であり、宇宙で得られた結晶は非常に高品質であった。得られた構造情報を元に、今後、より活性の高いセルラーゼの設計を行うことができれば、セルロースをより効率よくエネルギー源として利用できることが期待される。

### 3.5 インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ

横浜市立大学の朴らにより、インフルエンザウイルス増殖の中心的役割を担う、インフルエンザウイルスのRNA

ポリメラーゼ関連タンパク質も、JAXA PCG 第1回、第2回宇宙実験に搭載されており、新規抗インフルエンザ薬のターゲットとなることが期待されている。

### 3.6 β-ラクタマーゼ関連タンパク質

理化学研究所の似内らにより、β-ラクタマーゼの結晶化実験が行われ、非常に高分解能 (0.84 Å) な回折強度データが得られている。β-ラクタマーゼは、β-ラクタム系抗生物質を加水分解する働きがある。この酵素を産生する能力を獲得した菌は、β-ラクタム系抗生物質が効きにくい耐性菌となり、院内感染などの深刻な問題を引き起こしている。したがって、β-ラクタマーゼに分解されにくい新規抗生物質の探索は急務である。現在、宇宙実験で得られたタンパク質の非常に詳細な構造データをもとに、水素原子の位置の特定や新規抗生物質の検討等が進んでいる。

### 3.7 ヒト由来 MTH1 タンパク質

熊本大学の山縣らは、ヒト由来 MTH1 タンパク質とその阻害剤の複合体の結晶化を行い、1.08 Å 分解能の高品質結晶が得られた。ヒト由来 MTH1 タンパク質は、細胞内で活性酸素により損傷した DNA の塩基を浄化するタンパク質である。もしガン細胞内で本タンパク質の働きを抑えることができれば、ガン細胞の増殖を抑制することができるため、新規抗ガン剤候補として期待されている。

## 4. 最後に

1980~1990年代には、米国を中心に、スペースシャトルを利用した宇宙でのタンパク質結晶生成実験が多数実施されていた。しかし、結晶が得られる確率が低く、結果として構造生物学への貢献はあまり高いとは言えなかった<sup>12)</sup>。また、その準備期間の長さや、実験機会の不確実さから、競争の激しい創薬や先端科学のための利用には適さない面があった。

しかし、JAXA は、JAXA (NASDA)-GCF 以降、タイムリーに実験機会を提供できるよう、実験の実施体制や実施プロセスの整備、様々な技術開発に力を入れてきた結果、宇宙での結晶生成実験は、かなり実用的な構造解析での利用に貢献可能なものとなってきた。また、微小重力環境を活かすための技術開発等により、宇宙での結晶生成確率も7割以上に向上した。現在のところ、地上での宇宙実験向けの結晶化条件最適化ができれば、かなり確実に、高分解能な回折データが得られる高品質な結晶が生成するようになってきている。このため、地上で、ある程度良い分解能のデータが取得できる結晶が得られている場合に、更に高分解能なデータの取得を目指し高品質な結晶を得るために、宇宙実験は非常に有効な手段であるといえる。

## 謝辞

「国際宇宙ステーション応用利用研究拠点推進制度」のタンパク質結晶生成分野の研究拠点での研究においてお世話になりました、大阪大学中川敦史教授、兵庫県立大学樋

口芳樹教授，横浜市立大学朴三用教授，大阪バイオサイエンス研究所裏出良博研究部長，及び JAXA PCG の第 1 回実験でお世話になりました，理化学研究所似内靖先任研究員，熊本大学山縣ゆり子教授に感謝いたします。カウンターディフュージョン法を用いた結晶化実験への有用なアドバイスをいただいた，スペイン/グラナダ大学の J. M. Garcia-Ruiz 教授とその研究グループのメンバーに感謝いたします。また，宇宙実験のためにロシアサービスモジュールと打上げ/回収手段を提供いただいたロシア連邦宇宙局と RSC エネルギア社に感謝いたします。また，SPRING-8 大型放射光施設の使用にあたり 高輝度光科学研究センター (JASRI) に感謝いたします。スイス放射光施設 SLS の使用に当り Paul Scherrer Institut (PSI) に感謝いたします。

#### 参考文献

- 1) M. Sato, H. Tanaka, K. Inaka, S. Shinozaki, A. Yamanaka, S. Takahashi, M. Yamanaka, E. Hirota, S. Sugiyama, M. Kato, C. Saito, S. Sano, M. Motohara, T. Nakamura, T. Kobayashi, S. Yoshitomi and T. Tanaka: *Microgravity Sci. Technol.*, **XVIII-3/4** (2006) 5.
- 2) N. E. Chayen and E. Saridakis: *Nature Methods*, **5** (2008) 147.
- 3) A. A. Chernov: *Acta Cryst.*, **A54** (1998) 859.
- 4) A. McPherson: *Crystallization of Biological Macromolecules*, Chap. 10, p435, Cold Spring Harbor Lab. Press, 1999.
- 5) A. Vergara, B. Lorber, A. Zagari and R. Giege: *Acta Cryst.* **D59** (2003) 2.
- 6) H. Tanaka, K. Inaka, S. Sugiyama, S. Takahashi, S. Sano, M. Sato and S. Yoshitomi: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1027** (2004) 10.
- 7) M. Yamanaka, H. Tanaka, S. Takahashi, K. Inaka, A. Nakagawa, M. Sato, T. Kobayashi and T. Tanaka: *The 9th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan Abstract Book* (2009) 119.
- 8) S. Takahashi, H. Tanaka, M. Sato, K. Inaka, B. Yan, M. Yamanaka, N. Furubayashi, S. Sano, T. Kobayashi, A. Nakagawa and T. Tanaka: *Acta Cryst.* **A64** (2008) C581.
- 9) K. Tsukamoto, G. Sasaki, K. Kojima and M. Tachibana: *Space Utiliz. Res.*, **25** (2009) 205.
- 10) J. M. Garcia-Ruiz, M. L. Novella, R. Moreno and J. A. Gavira: *J. Cryst. Growth*, **232** (2001) 165.
- 11) S. Takahashi, T. Tsurumura, K. Aritake, N. Furubayashi, M. Sato, M. Yamanaka, E. Hirota, S. Sano, T. Kobayashi, T. Tanaka, K. Inaka, H. Tanaka and Y. Urade: *Acta Cryst. F*. Submitted.
- 12) <http://www.nap.edu/books/0309069750/html>

(2010年3月15日受理)