

# 高難度タンパク質をターゲットとした放射光X線結晶構造解析技術の開発

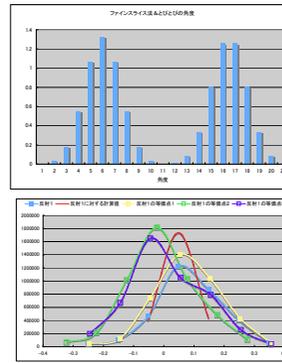
## 微小結晶からのデータ収集のためのデータ処理技術の開発

大阪大学蛋白質研究所 中川敦史・鈴木守・山下栄樹・田中秀明

### 背景

放射光ビームラインはタンパク質のX線結晶構造解析に不可欠なツールとしてその進歩に貢献してきた。高輝度な放射光の利用により、難易度の高い結晶、例えば、微小結晶や分解能の悪い結晶などからのデータの取得が可能となっている。一方、その高い輝度の所為で、タンパク質結晶は放射線損傷によりデータを取得していく毎に壊れていく。完全なデータセットを取得するためには、結晶の空間群によって決まる角度範囲のデータを収集する必要があるが、測定之初と測定の終了時では測定分解能が悪くなっていくのが常であり、構造自体の変化を起こすことも少なくない。特に微小結晶の回折実験では、X線損傷が激しく、通常の実験のように1個の結晶で完全なデータセットを収集することは不可能となる。本研究課題では、微小結晶からの高精度な回折強度データ収集のための方法論の開発を進めている。

### 放射線損傷を抑えた測定法の開発



ファインスライス法を用いてとびとびの角度で1セットを測定する  
2セット目で残りをとびとびに測定  
**分解能、総角度範囲を落さずにビーム量を減らす！**

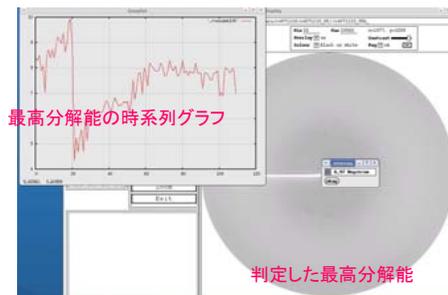
現在、損傷を抑えた全く新しい測定法の開発を進めている。その原理を左に示す。これは、ファインスライス法(あるいは静止写真法)を利用して十分に細かい角度ステップで測定したデータからならば、とびとびに測定したデータからでも内挿により全積分の値を見積もることができるという原理に基づいている。上のグラフの横軸は回転角度で、ピークの幅が回折点のモザイク角に対応する量となる。この方法のポイントは、分解能や総角度範囲を落とさずに照射ビーム量を減することができる点にある。

実際の測定では、とびとびの値の偶数番目(上のグラフの左のピーク)を測定して1セットを取得し、2セット目で奇数番目(上のグラフの右のピーク)を取得する。損傷の影響が強ければ1セットのみでデータにし、損傷の影響が少なければ、1、2セットを一緒にして通常の解析をすれば良いというような戦略をとる。これまでの研究で、実際にCMOS検出器からのファインスライスのデータ(JASRI長谷川氏提供、リゾチーム、 $0.06^\circ/\text{frame}$ )でとびとびの値だけでデータを(内挿せずに)積分しても問題なく構造解析できるデータが得られている。

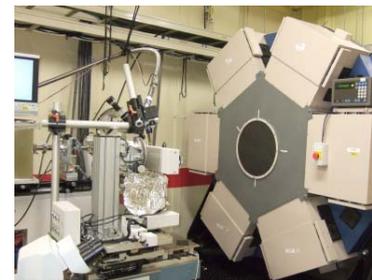
現在、とびとびのデータから、より正しい積分強度データを見積もるために、測定データから反射のプロファイルを抽出する方法を検討している。

検出器からのイメージデータから瞬時に有効分解能を抽出するプログラムを開発した。これは、検出器からのイメージをリアルタイムで表示し、約1秒後にプログラムで判定した有効分解能をイメージの中央部分に表示している。さらに有効分解能のイメージ毎の時系列プロットを表示し、最新の100フレームの傾向が一目で分かるようにしている。フレーム毎に次第に有効分解能の値が大きくなって(悪くなって)いく様子が見て取れる。ユーザはこのグラフを元に結晶の照射位置を変える、結晶を交換するなどの判断を行うことができる。

### 放射線損傷リアルタイムモニター



### 蛋白研ビームライン



SPring-8に設置している大阪大学蛋白質研究所のビームライン: 生体超分子構造解析ビームライン(BL44XU)では、生体超分子複合体を構造解析をメインターゲットとして、格子の大きな結晶、微小結晶、低分解能の結晶など難易度の高い結晶の回折強度データを精度良く測定することを技術的目標に掲げて、ビームラインの開発を行っている。このビームラインの特長である放射光ビームの高い平行性を生かしたデータ収集法を開発しながら、微小結晶からのデータ収集のためのデータ処理技術の開発を進めている。