

タンパク質結晶解析 (MIR-OAS) 共用ビームライン

神谷 信夫

理化学研究所*

Bio-Crystallography (MIR-OAS) Beamline

Nobuo KAMIYA

The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN)

本ビームラインは、SPring-8におけるビームライン要素の規格化・標準化を目的として、共同チームが最初に建設することを決定した2本の先行開発ビームラインの内のひとつである。その建設目的は、(1)タンパク質結晶構造のルーチン解析、(2)超分子複合体・微小結晶の解析とされており、この基本構想は最初のビームライン建設提案から5年を経過した現在も変わっていない。

タンパク質結晶解析法は、核磁気共鳴法(NMR)とともに、「構造生物学」を基礎付けるタンパク質の立体構造解明法である。構造生物学は、現在もっとも発展の著しい生命科学分野のひとつであり、生命現象の基礎反応が実際に進行する場、すなわち「タンパク質の立体構造」に基づいて生物学を論じることをスローガンに掲げている。しかしながらタンパク質の分子量は非常に大きく、時には数百万にも及ぶため、その立体構造の決定は必ずしも容易ではない。一方、生命は膨大な基礎反応の有機的な連携によって維持されており、その理解には可能な限り多くのタンパク質の結晶構造解析を進める必要があるが、現在まで

に立体構造の報告されているタンパク質の数は、たかだか数千種類程度である。上述した本ビームラインの建設目的は、SPring-8の高輝度特性を利用して、できるだけ早くこの食い違いを解消したいという日本の構造生物学研究者の総意に基づいている。

本ビームラインは、周期長3.2 cmの真空封止型アンジュレータを光源としており、その輝度は 10^{19} photons/sec/mm²/mrad²/0.1% b.w. (I=100 mA)にも及ぶ。この値は言うまでもなく、光源のサイズおよび発散角の小ささと高いフラックスによっており、回転傾斜型2結晶モノクロメータと適当な集光系(スーパーミラーを含む)の採用により、それぞれの特性を損なうことなく、超高輝度 X 線をタンパク質結晶試料に導くことができる。タンパク質結晶解析の立場から考えて、これらの特性より期待される恩恵は、(a)利用可能な X 線エネルギーの高エネルギー側への拡大、(b)高いエネルギー分解能の実現、(c)平行度の高い X 線ビームの利用、(d)微小スリットを通過するフラックスの確保などであり、(a)と(b)は上記建設

* 理化学研究所 〒678-12 兵庫県赤穂郡上郡町 SPring-8 リング棟
TEL 07915-8-1841 FAX 07915-8-0830
e-mail nkamiya@postman.riken.go.jp

目的の(1)に、(c)と(d)はその(2)にそれぞれ反映されている。

さて、本ビームラインのレイアウトや利用想定については他の文献^{1,2)}に詳しいので、そちらを参照していただくこととし、以後本稿では、本ビームラインの提案段階での想定を越えて、より一層 SPring-8 の高輝度特性を活用できる可能性を秘めたタンパク質結晶解析の新しいトピックスについて述べる。

タンパク質の結晶は、言うまでもなくモザイク結晶であるが、高分解能の構造解析が可能な良質の結晶については、そのモザイク性は思いの外に小さいことが徐々に認識されつつある。ニワトリ卵白リゾチームでは、そのロックングカーブの幅は 0.004° 以下であることが最近筆者らにより明らかにされた³⁾。この値は、ちょうど SPring-8 のアンジュレータ光の発散角に相当し、両者のマッチングの良さを利用すれば、より高分解能で精度の高い回折強度測定が行えると期待される。もちろん適当な X 線光学素子を利用すれば、従来の X 線源を利用しても SPring-8 と同等の発散角の X 線を作り出すことは容易に行えるが、その場合には、微小なタンパク質結晶に入射可能なフラックスの低下が避け難く、本質的に回折能の小さいタンパク質結晶においては致命的な問題となる。

ところで、上述したニワトリ卵白リゾチームの結晶は、多くのタンパク質結晶の中でも特に結晶性に優れたものとされており、これと同等のロックングカーブ幅を持つものが一般的に出現するとは考え難いため、従来と同様地上で結晶化を行うとすれば、SPring-8 の高輝度特性を十分に活用できる領域は小さいと言わざるを得ない。しかしながら我々がここで注目したいのは、スペースシャトルや現在計画が進行中の宇宙ステーションに代表される微小重力実験機会である。微小重力下で実現される対流の少ない媒質条件が、結晶化に

おいて有効に働くことは容易に想像できるが、タンパク質の結晶化においても最近その効果を実証した例がいくつか報告された。その内のひとつ⁴⁾によれば、宇宙で結晶化したニワトリ卵白リゾチームの結晶は、 0.001° のロックングカーブ幅を持っていたとのことである。一方、まったく同じ結晶化条件における地上対照実験から得られた結晶のロックングカーブ幅は、 0.02° とされており、そのモザイク性は実に20分の1に改善されたことになる。この対照実験を上述した我々の結果と比較すれば、同じタンパク質でも結晶化条件が異なれば、さらに結晶性の優れた試料を調製できる可能性もあることとなり、シリコンとまではいなくても、より完全に近いタンパク質結晶の調製も夢とばかりは言い切れなくなりつつある。また今回報告された結晶性の改善が、他の多くのタンパク質についても期待できるとすれば、従来は観測可能な分解能が低いという理由で構造解析を断念せざるを得なかった試料についても解析の可能性が広がることとなり、微小重力実験機会が今後のタンパク質結晶解析に及ぼす影響には多大なものがある。宇宙におけるタンパク質の結晶化は、宇宙から地上への、あるいはシャトルの着陸地点から研究場所までの試料の運搬法という今後改善されるべき問題は残るものの、構造生物学研究者にとって未開のフロンティアであり、この領域の開拓により一層の努力がなされ、宇宙で結晶化されたタンパク質試料が、共同利用研究の対象としてどんどん本ビームラインにもたらされる日の近いことを願っている。

文献

- 1) 神谷信夫：生物物理 35, 15 (1995).
- 2) 神谷信夫：日本結晶学会誌 38, 80 (1996).
- 3) 神谷信夫：科研費重点「放射光による蛋白質結晶構造のミリ秒オーダーのダイナミックスの研究」News Letter 3(1), 8 (1995).
- 4) E. H. Snell, S. Weisgerber and J.R. Helliwell: Acta Cryst. D51, 1099 (1995).