

■ 会議報告

第23回 IUCr 国際学会の報告 (生物科学分野)

馬場清喜 (公益財団法人 高輝度光科学研究センター タンパク質結晶解析推進室)

国際結晶学連合 (The International Union of Crystallography: IUCr) が主催する国際学会は3年に一度開催され、結晶学のあらゆる分野の研究について発表が行われる。今回、カナダ Montréal で8月5日から12日までの期間で開催された第23回 IUCr Congress では、Plenary Lectures 4 講演、Keynotes Lectures 34 講演が企画された。また、Microsymposia として8つの分野 (Biological Macromolecules, Chemical Crystallography, Crystallographic Education, Instrumentation, Techniques and/or Computation, IYCr, Materials or Minerals, Physical and/or Fundamental, XAFS) から112のセッション (期間中で午前と午後にそれぞれ8つのパラレルセッションが生まれ、各セッション内で6件のオーラル発表) が組まれた。ポスター発表数は1311件あり、Microsymposia の分野別に分けられ、4日間で発表が行われた。(キャンセルがあったため、実際は若干少ない) さらに、今年は世界結晶年 2014 (IYCr2014) というこで、IYCr2014 に関する講演やポスターも特集として組まれていた。期間中、午前と午後にそれぞれ8つのパラレルセッションが組まれた Microsymposia は、興味のあるセッションが重複する日程が何度もあった。この規模の学会では、セッションの重複は仕方がないのかもしれないが、残念であった。今回の報告は、専門分野の関係上、タンパク質結晶構造解析の分野に重点を置き、報告する。

タンパク質の結晶構造解析を行うために使用する放射光の高輝度 X 線は、これまで以上に高輝度化されるとともに、高精度ミラーを使用した集光により数ミクロンの微小ビームを利用することが可能となっている。一方で100 K 以下の低温状態においても放射線損傷は甚大であり、Full Flux を一カ所に照射したままで回折実験を行うことは困難である。これらのビームを利用するためには、結晶に対し効率的に X 線を照射する必要があり、X 線を用いたループ内複数結晶の位置確認、放射線損傷の評価、損傷を低減しながらデータ収集を行うための X 照射位置変更を最適に行うためのシステム構築が各放射光施設で進んでいた。こうしたシステムを利用することにより、数ミクロンの微小結晶からのデータ収集が容易になっていることが報告されていた。特に、微小結晶1つから解析に必要なデータを測定することは難しいことから、複数結晶から収集されたデータを評価し、マージ可能なデータの選別を行

うためのシステムが解析結果も含め、多数報告されており、注目を集めていた。また、Photon Counting Pixel Array Detectors や Flame transfer CCD Detector のような高速読み出しが可能な検出器の導入が進み、shutter less による高速データ収集がより普及していた。さらに、構造決定に必要な位相を迅速に決定するために開発が行われている低エネルギーを利用した S-SAD 位相決定法については、単独の Microsymposium が開催されていた。低エネルギーでの測定に最適化された装置の高度化、位相決定に必要なデータの精度を得るための回折実験条件の最適化が進んでいることが報告され、位相決定に S-SAD 法を利用した解析結果も多数報告されていた。今後、低エネルギーでの S-SAD 法による構造決定の数はさらに増えていくことが予想された。

XFEL が生み出すフェムト秒の X 線レーザーをタンパク質の結晶回折実験において利用する取り組みも多数紹介されていた。フェムト秒の X 線レーザーを照射する場合、1回の照射時間中に結晶を回転することはできないため、回折点は部分的な反射しか得られない。また、無損傷でのタンパク質結晶構造解析を XFEL で行う場合、1カ所の照射位置あるいは1つの微小結晶へ1回しかフェムト秒の X 線レーザーを照射できない。凍結したビームサイズより大きな結晶であれば、損傷が伝播しない距離を離し、数カ所からデータを収集することができることが報告されており、データの質を揃えるのに有効である。しかし、微小結晶の場合は、複数結晶を用いる必要があるため、データ精度が結晶間の同型性によるところが大きく、位相決定等のデータ精度を要求する測定においては、結晶の質、大きさを揃える事が重要になる。今回、X 線レーザーを単色光として使用するのではなく、2波長 (two-color beam) に分離し、同時に試料に照射する手法が報告されていた。この方法は同じ結晶から2波長分の回折データを取得でき、位相決定において重要な要素となる異常分散のデータ精度を向上させることが期待できる。また、XFEL で複数の微小結晶からデータ収集を行うために、室温環境下でインジェクターから微小結晶を押し出し、光路に常に新しい結晶が流れるようなシステムでの実験がすでに報告されている。このインジェクターシステムの利用を広げるために放射光のビームラインに設置し、実験を行った報告がされていた。放射光ではフェムト秒の X 線レーザーを利用



カナダ モントリオールの学会会場



Closing Ceremonyの様子

できないため、dose rateを抑えるなど測定時の考慮は必要である。また、これまでに結晶化したプレートからそのままデータを取得する In situ での回折実験系が開発されてきたが、結晶化で得られた微小結晶をそのままゴニオメータ上に設置を可能とするサイズの結晶化 BOX などの In situ 回折実験系の開発が報告されていた。

これまでの放射光ビームラインの自動化の一環として、遠隔地からのリモート測定が開発され、利用されている。さらにそうしたリモート測定や迅速な構造決定のために、海外の放射光施設では、タンパク質の発見・精製から結晶化、X線回折測定、構造解析、創薬のターゲットとなるような基質複合体を形成するタンパク質であれば、その後の基質スクリーニングまでも含めたパイプライン化された運用が報告されていた。日本の放射光施設においても、高輝度 X 線と高速な検出器を組み合わせることで処理が必要なデータの数が増えているため、測定後の解析の自動化は重要な開発要素である。一方、構造解析を行うタンパク質は、種類毎に結晶化までのプロトコルは画一的に進められるほど単純ではない。日本が発信する研究としてアガロースゲル内での結晶化法、湿度調整と水溶性高分子を用いた結晶マウント法、凍結した結晶を Deep-UV Pulsed Laser を利用して加工する方法などが報告されていた。このような独自の技術が様々な結晶について利用されることで、得られた結晶から高効率にデータを収集する

環境を整備、運用することが可能であると考えられる。

タンパク質結晶構造解析の解析手法の分野は、他の分野に比べ、解析用のソフトウェアの進歩が著しい分野である。従来から利用されているソフトウェア PHENIX などは、より低分解能のデータを使用した構造精密化の高精度解析を可能とする進歩が開発者から語られた。さらに、空間群で決定した格子長よりも長い周期のタンパク質の揺らぎにより観測される modulated diffraction patterns により得られる modulation vector から長周期の揺らぎを解析する手法が発表されていた。この解析方法により、従来では平均化されて電子密度を確認できなかった部分構造が見えるなど、新たな構造情報を得ることができるのは驚きであった。

結晶回折実験で得られたデータを解析するソフトウェアは、解析初心者でも比較的戸惑うことなく解析を進めることが可能である。しかし、溶媒領域や基質複合体の解析などにおいて、原子や分子の種類を間違えて配置した pdb ファイルが登録されている事例が見られる。これらの解析方法についての講習は、国際学会においてワークショップの形式で開催されていたが、今回は X 線結晶構造解析の初心者を対象とした Microsymposia も組み立てられ、タンパク質結晶構造の解析を行う研究者の数が増え続けていることを実感した。次回は 3 年後にインド Hyderabad で開催される。