

各ビームラインの報告

編集幹事から一言

今回のSPring-8シンポジウムではBLの建設を担当しておられる方々が立ち上げ当初に実施する研究の提案をしました。以下にそれらの講演の概要を掲載します。なお現在建設しているBLに対する“満足度”もコメントしてもらいました。これはSPring-8で実現したい研究に対して現状のBLがどこまで迫れるものであるかを示すもので、別の見方をすればそのSGが将来に対して持ち越している研究をいうわけですからBLの将来性の目安とともれます。

生体高分子結晶構造解析ビームライン

◇ X線構造生物学SG

SPring-8タンパク質結晶解析ビームラインへの期待

京都大学 大学院理学研究科

三木 邦夫

構造生物学の分野におけるタンパク質結晶学の貢献は年々高まり、とりわけこの数年来はその研究成果についてもめざましい進展がある。このあたりの背景と現状については、本誌前号の「運営委員に就任して」の欄で述べさせていただいた(光彩、No. 11、pp. 2-3)。生命科学の分野での生体高分子立体構造研究の重要性の認識から、現在タンパク質データベースに登録されている構造の件数は4,500を超えるようになったが、そのうちの83%がX線結晶解析法によるものである。このようなタンパク質結晶学の飛躍には、いうまでもなくシンクロトロン放射光の利用が大きな貢献を果たしている。Nature、Scienceなど、生命科学分野の重要な学術雑誌4誌について、今年上半期を統計的に検索したところ、X線結晶解析によるタンパク質立体構造研究の報告の54%が放射光を利用してのものであった。これはシンクロトロン放射光の、研究室を離れて利用しなければならないという地理的ハンディキャップを考えると驚くべき数字であり、今後もこの傾向が進むことに疑う余地はない。しかし、我が国の例を見ると、また世界の例でも同様に、研究者の放射光実験へのニーズに対して現状は全く応えきれていない。SPring-8はこのような現状を打破し、同時に、これまでの放射光利用にはなかった新しいサイエンスへの挑戦をも可能にしてくれることが期待されている。

われわれX線構造生物学・サブグループとして支援しているタンパク質結晶解析ビームライン(建設責任者: 神谷信夫・理化学研究所副主任研究員)は、このようなタンパク質結晶学の分野の現状に明確な回答を出すべきもので、生物学的に極めて興味深い多くのタンパク質の構造をできるだけ効率的に解き明かして、構造生物学の生命科学への貢献を高

めていくことを大きな目的としている。そのビームライン設計の概念として、タンパク質結晶構造決定で最も標準的かつ強力な方法である多重同型置換法を、その位相決定に大きく寄与する異常分散を最も効果的に測定するよう最適化して遂行するMIR-OAS法(Multiple Isomorphous Replacement Method with Optimized Anomalous Scattering)を採用している。現在でも、シンクロトロン放射光での異常分散測定を何らかの形で位相決定に組み込んでいる例は、おそらく多重同型置換法全体の半分近くを占めていると思われる。したがって放射光利用の実験条件を最適化するこのビームラインの建設は、タンパク質結晶学研究をますます促進するものと考えられる。現在におけるビームラインの建設は、この目的の十二分な達成を目標としている。また、ビームラインに当然備えられるべきである試料冷却装置や解析ソフトウェアなど、周辺環境の開発・整備も進めている。

X線結晶解析のタンパク質構造決定における一つの大きな利点は、分子量が百万を超えるような超分子複合体タンパク質に対しても、全くその威力を失わないことであろう。生物学的な意義の大きい膜タンパク質はそのほとんどが超分子複合体構造をとっており、その意味でも超分子複合体の構造生物学はこの1、2年大きな注目を集めている。超高分子量タンパク質結晶からの微弱な回折強度測定に対しては、何よりSpring-8のシンクロトロン放射光の有効性が期待されるところである。タンパク質結晶解析ビームラインは、この分野への貢献も十分にその念頭に置いている。さらに、このビームラインがアジアの関連科学分野の核として機能することも、今後果たすべき重要な役割の一つであろう。このような多面的な要求に応えつつ、内外から高い評価をうけるビームラインを建設したい。

◇生体高分子（結晶）SG

生物化学の飛躍のための蛋白質結晶のルーチン解析と非ルーチン解析

名古屋大学 工学部

山根 隆

はじめに

当サブグループ（以後SG）は、最初世話人として田中信夫（東工業大）教授のもとで活動してきたが、本年4月より世話人を山根に交代し現在に至っている。現在、班員27名である。当SGは、BL41XU（生体高分子結晶構造解析）に理研／Spring-8共同チームの神谷信夫博士が、蛋白質結晶構造のルーチン解析を目指して準備されているラインの解析用ソフトウェアの開発（リーダーは島根大理工の浜田賢作班員）を中心に活動してきた。

ルーチン解析用ソフトウェアの開発

蛋白質結晶のルーチン解析は、底辺を確保する点でAFCのように重要であるというのが、我々の認識である。実際、普通の蛋白質の構造解析は結晶ができX線データが収集できれば、ほとんどがルーチン解析で構造を求めることができるといってよく、非ルーチン解析とは、超分子複合体の用に非常に特殊な構造解析ではなからうか。

現在までに完成したWindow環境で使用できるソフトウェアシステムの概要を図1に示す。

詳細は、1996年度日本結晶学会年会で発表される。ソフトウェアの独自での開発は、維持管理などに問題はあるが、新発想での取り組みのためにも必要である。現状ではUNIXかWindowsかなど問題点もあるが、かなりの成果を上げていると思われる。

現状と今後の展開

PFにおいて、 $0.2 \times 0.2 \times 0.1 \text{ mm}^3$ 程度の結晶でも、 $1.5 \sim 1.6 \text{ \AA}$ 分解能のデータが収集され、分子モデルも $R < 0.20$ にまで精密化されている。筆者らは、高アルカリ耐性のMプロテアーゼの 1.6 \AA 分解能の構造モデルと、アルカリ安定性の異なる類似のプロテアーゼのアミノ酸配列の解析から、アルカリ安定化に関与すると思われるアミノ酸部位を推定できている。このように、立体構造を基にした高機能酵素の分子設計が可能となろうとしている。

筆者らは、耐熱性要因の解明を目的とした、Bacillus由来の α アミラーゼ(2.2 \AA)やアデニレートキナーゼ(1.8 \AA)の構造解析に成功し、現在安定化要因を解析中である。また、Mプロテアーゼと阻害剤PMSFの複合体からのpHジャンプによるPMSFの解離の動的解析も進めている。

今後の展開としては、 α アミラーゼ(2.2 \AA)の高分解能解析や「発光細菌*Vibrio fischeri*由来のフラビン還元酵素およびその類縁酵素のX線結晶構造解析」提案にみられるように、ルーチン的と思われるものもある。一方、アミダーゼやセルラーゼ結晶にみられるように薄片状(厚さ 0.05 mm 以下)結晶の構造解析や、「クロコウジカビ酸性プロテアーゼA(分子量 22 k)の超高分解能X線結晶構造解析」一結晶は、 $0.05 \text{ mm} \times 0.05 \text{ mm} \times 1.0 \text{ mm}$ 程度の大きさであるが、SPring-8で測定すれば 1.0 \AA 分解能以上の回折強度データが得られると期待される一などの研究申請も増えるであろう。

超分子複合体の非ルーチン解析や動的解析に加えて、「低分子結晶の構造解析」のできる環境整備も必要である。その主要なテーマは、超構造、超分子の解析である。超構造は超分子の最も簡単な場合だが、それでも低分子でも解けた例は少ない。分解性がありしかも微結晶で格子が大きい場合など、有機結晶分野でもSPring-8の果たす役割は大きい。

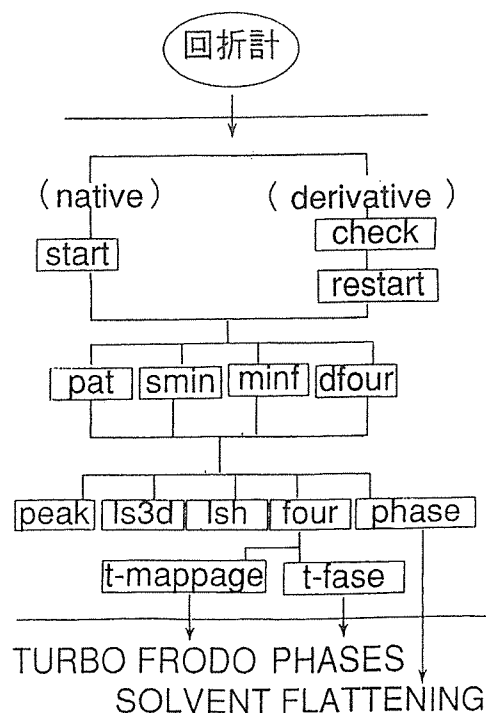


図1. ルーチン解析用として開発された構造解析用システム

Window環境で使用

(図提供: 浜田賢作(島根大理工))

例えば重原子チェック手順は以下の通り。

start→pat→smin→(symmetrical minimum function)→peak→lsh/ls3d(refinement)