

自動データ処理によるタンパク質微小結晶構造解析の迅速化 Facilitating protein microcrystallography by automated data processing

山下恵太郎^{1,2*}

¹東大理, ²理研 SPring-8

Keitaro YAMASHITA^{1,2}

¹The University of Tokyo, ²RIKEN SPring-8 Center

*keitaro.yamashita@bs.s.u-tokyo.ac.jp

X線結晶構造解析は生体高分子の構造を精密に決定する非常に強力な手法であり、光源・検出器・試料調製技術などの進歩によって構造決定に必要な時間・労力を含むコストは大幅に削減されてきた。しかしながら、生命機能の解明に重要な膜タンパク質等の解析難度は高く、通常の放射光ビームラインで簡便に回折データを収集可能な大きさの結晶を得ることは難しい。近年 SPring-8 の BL32XU や BL41XU 等で利用可能になった高フラックスマイクロビーム X 線によって、数ミクロン程度の微小結晶からのデータ収集も可能になってきたが、放射線損傷の問題から単一の微小結晶では分解能が大きく制限されるため、多数の結晶を用いることが必要になる。我々は BL32XU において微小結晶を用いた構造解析手法の発展に取り組んできた。

多数の微小結晶を用いた解析では、より多くの回折データを収集することが肝要である。シグナルの積算による高分解能化が期待できるほか、結晶間での質のばらつきが存在する場合に均質かつ高品質なデータを抽出することが期待できるからである。そこで、試料ホルダ上に多数存在する微小結晶から、それぞれ 5–10° (small wedge) 程度の振動写真データを集める戦略を取った。まず、微小結晶に正確に X 線を照射するためには X 線による試料ホルダの走査(回折スキャン)が必須である。得られたイメージを迅速に解析する結晶位置探索ソフトウェア SHIKA の開発によって、回折スキャン終了後即座にデータ収集を開始することが可能になった。多数の結晶から収集された回折データは、ソフトウェア KAMO によって自動処理される。KAMO は結晶個別のデータを自動処理し、格子定数に基づいて分類、空間群を判別、さらに階層的クラスタリング法によって同型性による分類を試み、各クラスタについて異常値を示すフレームまたは結晶の棄却を行いながらスケール・マージし、最良クラスタの決定を行う。KAMO によって、数百個以上の結晶を用いた場合でも構造解析を簡便に行えるようになった。KAMO は GitHub 上で公開されており、既に国内外を問わず利用されている[1]。

これら微小結晶解析に不可欠な新規プログラムを開発することで、高難度試料の構造解析に多数貢献することができた。本発表内容は理研 RSC・山本雅貴部長の指導の下、同グループ特に平田邦生専任技師との共同開発によるものである。BL32XU ユーザの皆様ならびに SPring-8 PX-BL のスタッフの皆様にはこの場を借りてお礼申し上げる。

参考文献

[1] K. Yamashita, K. Hirata & M. Yamamoto *Acta Cryst.*, **D74**, 441 (2018).