

BioSAXS における最新測定解析 -パイプライン自動測定解析からシリアル測定解析まで-

清水伸隆
高エネ機構・物構研・PF

BioSAXS (タンパク質 X 線溶液散乱) は、溶液中におけるタンパク質の性状や概形構造を得ることができる手法である。単独の解析では低分解能なため得られる情報は限定的だが、結晶構造解析等で得られた高分解能構造や、そのような構造を用いた分子動力学計算 (MD) と組み合わせて解析を行えば (相関構造解析)、複合体内の分子配置や相互作用に伴う構造変化に関する情報を得ることができる。BioSAXS 自体は古い手法であるが、溶液概形を *Ab-initio* に解析するソフトウェアの登場により 2000 年代半ば頃より主に海外において活発に利用され始め、10 年経った現在でもその勢いは衰えていない。新規参入する構造生物分野のユーザーに対応するために、当初は「サンプルチェンジャー」の開発が急務であった。BioSAXS はエキスパート自ら「家内制手工業」と揶揄するほどの測定環境で、試料セルの洗浄と乾燥を繰り返して頻繁に溶液試料を交換しながら人海戦術で測定を行っていた。しかしながら、サンプルチェンジャーの開発により多様な溶液条件を自動的に連続で測定することが可能となり、その結果、「多種のリガンドとの相互作用状態の高速スクリーニング」といった以前までには非常に困難であった測定が可能となっている。一方で、BioSAXS 測定の経験者ならお分かりだろうが、概形構造を得られるほどの精度で散乱曲線データを得ることは、実は結晶化と同様に困難な場合が多い。解析を実現させるためには、溶液中で標的分子 (複合体分子) が単分散な状態にすることが必須である。しかしながら、溶液中の分子が多分散な状態で標的の状態以外の散乱体が存在している場合や、標的分子自体が全体もしくは部分的に構造を取っていない場合が多い。後者は溶液散乱の結果として得られる有益な情報であるが、前者に関しては何とかしてこの状態を解消しなければならない。サンプルチェンジャーを利用すれば、様々に溶液条件を変更することで最適な条件を見いだせる可能性があるが、2010 年頃より HPLC をオンラインに設置し、HPLC で測定直前に試料を単離精製してそのまま測定する Size-Exclusion Chromatography-SAXS (SEC-SAXS) が活発に利用されるようになって来た。このような測定が現実化されたのは PILATUS 等の大面積でしかも高速読出し可能な検出器が普及したためである。ポンプによってカラムから溶出されてくる溶液を連続的 (シリアル) に計測するためには、PILATUS のような検出器が必要不可欠である。SEC-SAXS 測定では、測定直前に溶液中に混在していた成分を分離することができるため、理想的には標的の状態を単分散として解析することができる。そういった理由から、現在では SEC-SAXS は「放射光ビームラインでの標準測定」という扱いになりつつある。

PF の小角散乱ビームラインは 2013 年度頃より大規模な高度化を開始し、海外からはやや遅れてはいるが溶液サンプルチェンジャーや SEC-SAXS システム等を導入し、既に多くのユーザーに利用されてきている。発表では、ビームラインの最新状況、サンプルチェンジャーによる全自動パイプライン測定解析、SEC-SAXS を始めとするシリアル SAXS 測定解析の現状など、測定解析例を示しながら紹介する。