

Native-SAD 法をベースとした自動構造決定システム開発

山田悠介^{1,2}、松垣直宏^{1,2}、千田美紀^{1,2}、原田彩佳^{1,2}、小祝孝太郎¹、千田俊哉^{1,2}

¹ 高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 放射光科学研究施設/構造生物学研究センター、² 総合研究大学院大学 高エネルギー加速器研究科

Native-SAD 法とは、タンパク質や核酸の構成原子である硫黄やリンなどが 1.6 Å よりも長い波長の X 線では微弱ながらも有意な異常散乱シグナルを示すことを利用した位相決定手法である。重原子置換体などの準備を必要とせず、天然(Native)の結晶のみを用いて位相決定を行うことが可能であることから、構造決定の迅速化や、重原子誘導体の作成が困難な対象への適応など多くの優位点を有する。このため、PF タンパク質 X 線結晶構造解析ビームラインでは、低エネルギー X 線の利用に特化した 2 本のビームライン(BL1A および BL17A)の開発を重点的に進め、Native-SAD 法の汎用化に努めてきた。特に BL-1A は世界的にも稀な 2.7~3.3 Å の波長の X 線が定常的に利用可能な光学系と、完全ヘリウム環境下でのデータ収集が可能な回折計を備えたビームラインであり、Native-SAD 法の利用を強力に推し進めている。最近では、Native-SAD 法に必要な高精度データ収集のための測定プロトコルも確立しつつあり、構造解析例も増大してきている。しかしながら、Native-SAD 法を一般的な手法とするためには、構造決定の工程の自動化を実現することが極めて重要である。それは限りあるビームタイムの中で Native-SAD 実験を実施するにあたっては、構造決定に足る精度のデータ収集に成功しているかはそのビームタイム中、出来ればデータ収集直後に知ることが重要であり、そのためには実際に構造決定が出来るかどうかデータ解析することが最も良い指標となる。このデータ解析を迅速、且つ客観的に行うためには自動化は必要不可欠である。そこで我々は実験データ管理システムである PReMo の機能を拡張し、ビームラインでのデータ収集から構造決定までの流れを自動化するシステム開発を行っている。

この自動構造決定システムでは、ビームラインで取得されたデータを自動処理した結果、十分な異常散乱シグナルが存在すると確認されると、SHELXD を用いた substructure の決定と、SHELXE による位相計算および位相改良を試みる。有意な電子密度図が得られた場合には、アミノ酸配列情報を与えられることで、モデルの自動構築までを行う。Native-SAD 法では単一および複数の結晶からのデータセットをマージすることでデータ精度を向上させ、構造決定を行うことが一般的に行われるが、このデータセットのマージの自動化も同時にすすめている。

また、分子置換(MR)法と Native-SAD 法とを組み合わせ、MR Native-SAD 法を用いた自動構造決定の開発も始めている。この手法では、substructure の決定を MR 法で得られた初期位相を用いた異常散乱差フーリエマップから得る。Native-SAD 法の最も困難な工程は substructure の決定であるが、MR の初期位相を利用することでこの工程を簡略化することが可能である。さらには、substructure の決定以降の工程は通常の Native-SAD 法と同様であり、実験的に決定された位相を用いて電子密度図を用いてモデル構築を行うこととなり、MR 単独による構造解析でよく見られる、構造精密化過程でのモデルバイアスの問題を解消することが出来る。これらの点は、構造決定の自動化の観点からは非常に優位であり、普遍的な自動構造決定ツールとしての利用が十分に考えられる。

本発表では上述したような自動構造決定システムを実現するにあたっての概要を説明するとともに、現在の開発状況を実例を交えて紹介し、その有用性について議論を行う。