

BL6Aでの生体超分子の構造研究

月原富武・兵庫県立大学大学院生命理学研究科

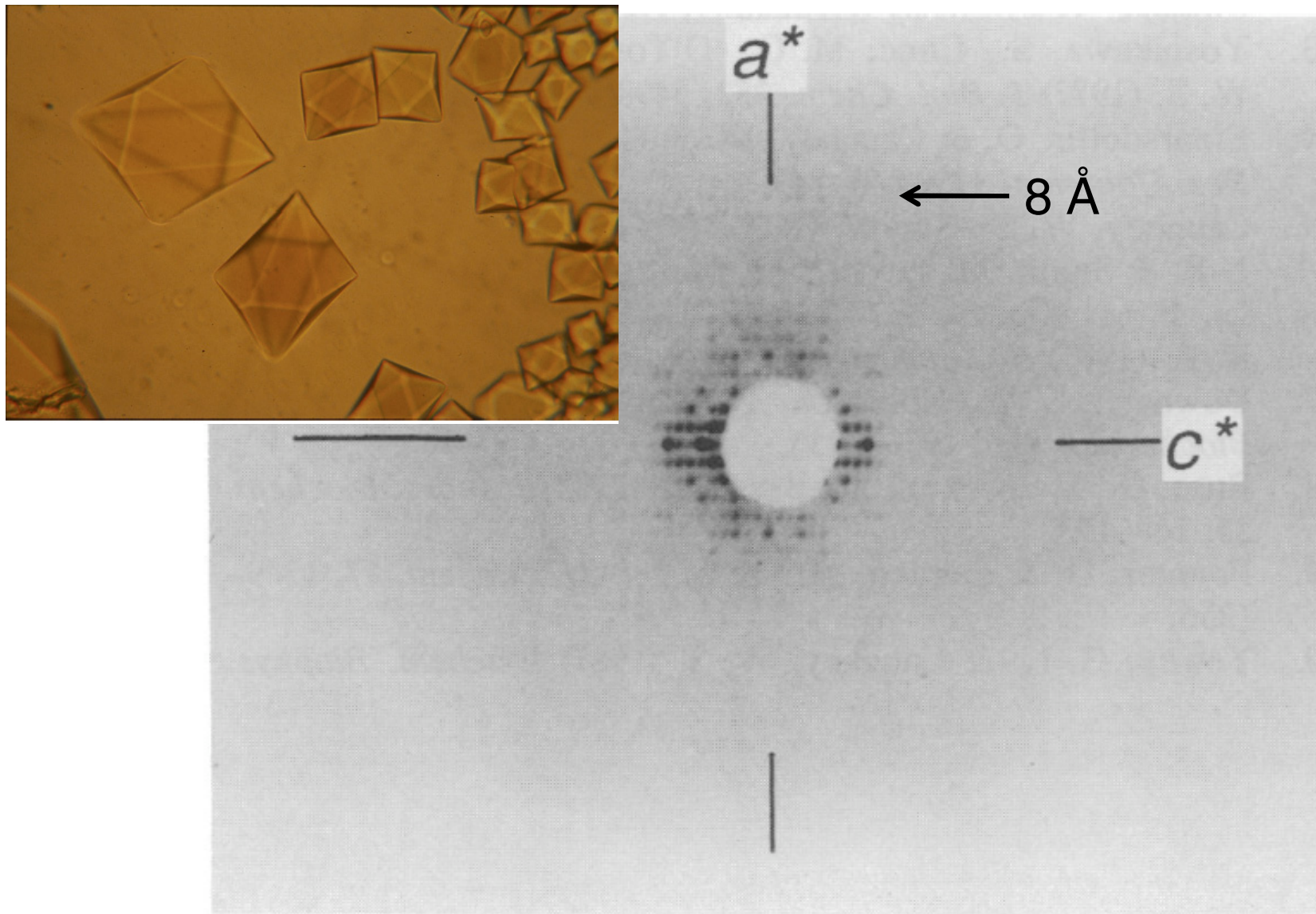
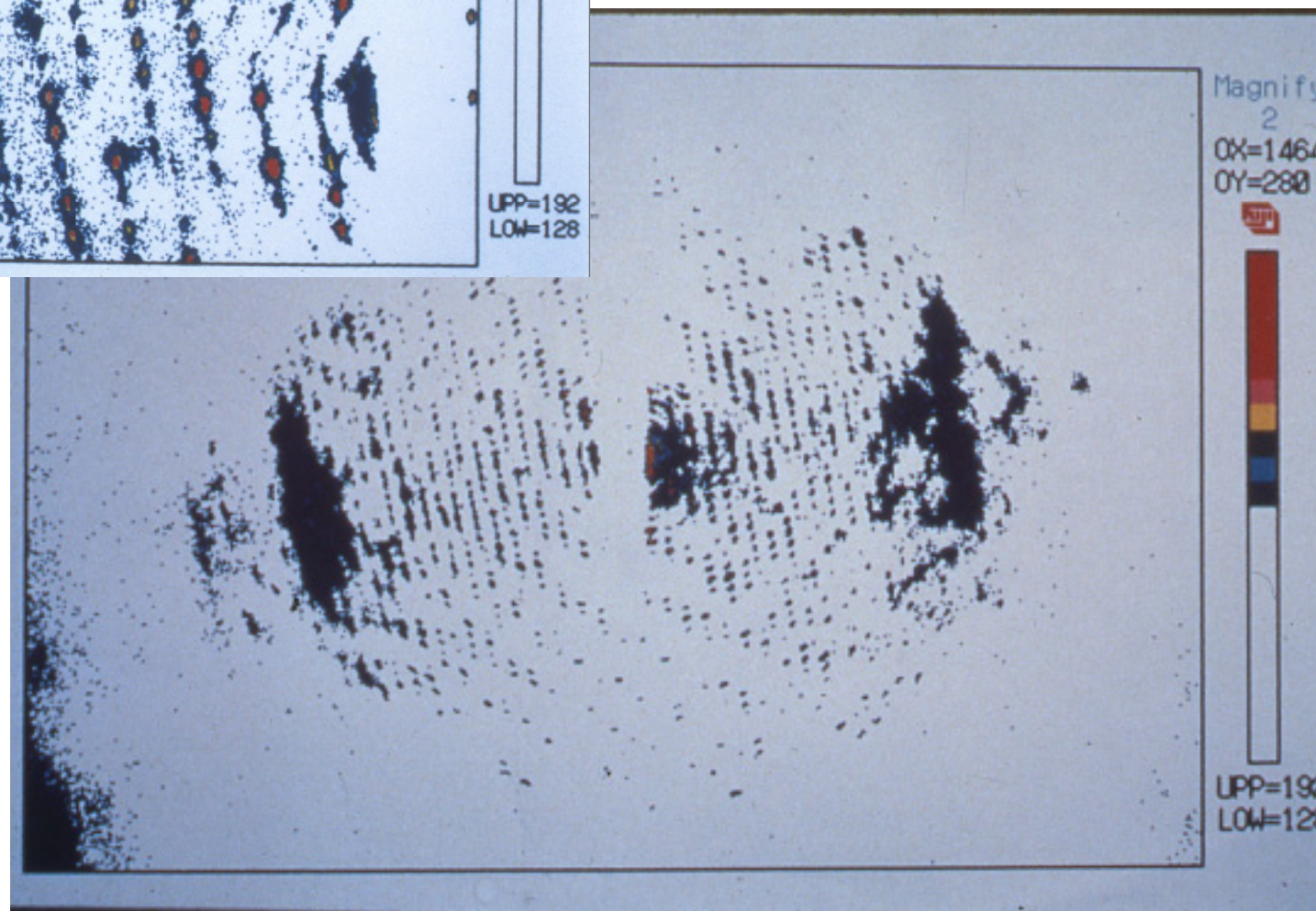
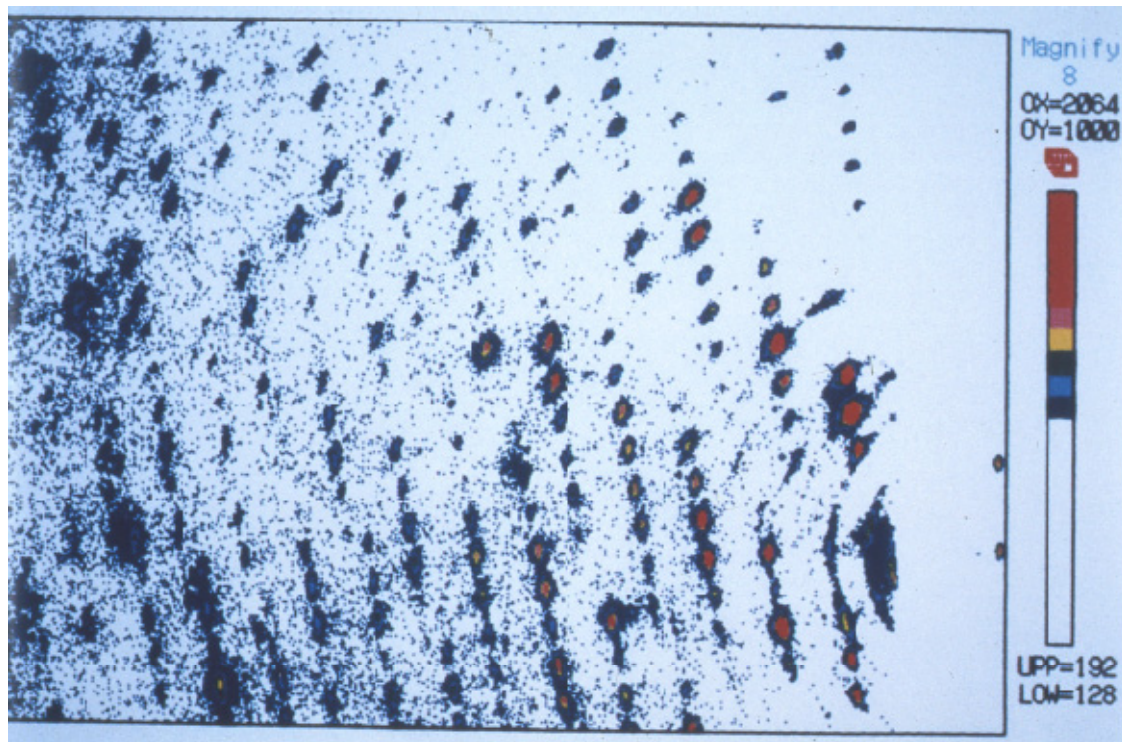


FIG. 3. X-ray diffraction pattern of a cytochrome *c* oxidase crystal. A precession photograph of $(h0l)$ taken at a precession angle $\mu = 5^\circ$ exhibits mm symmetry; systematic extinctions are $l \neq 3n$ for $00l$. $a = b = 174.5 \text{ \AA}$, $c = 282.2 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ and $\gamma = 120^\circ$



BL6A of PF
1987年

BL6Aがもたらしたもの

地方大学にいた我々に、チトクロム酸化酵素の研究で世界と対等に競争する条件を提供した。

研究者のみならず、学生にも最先端の設備を使って、最先端の研究を行う喜びと夢を与えた。

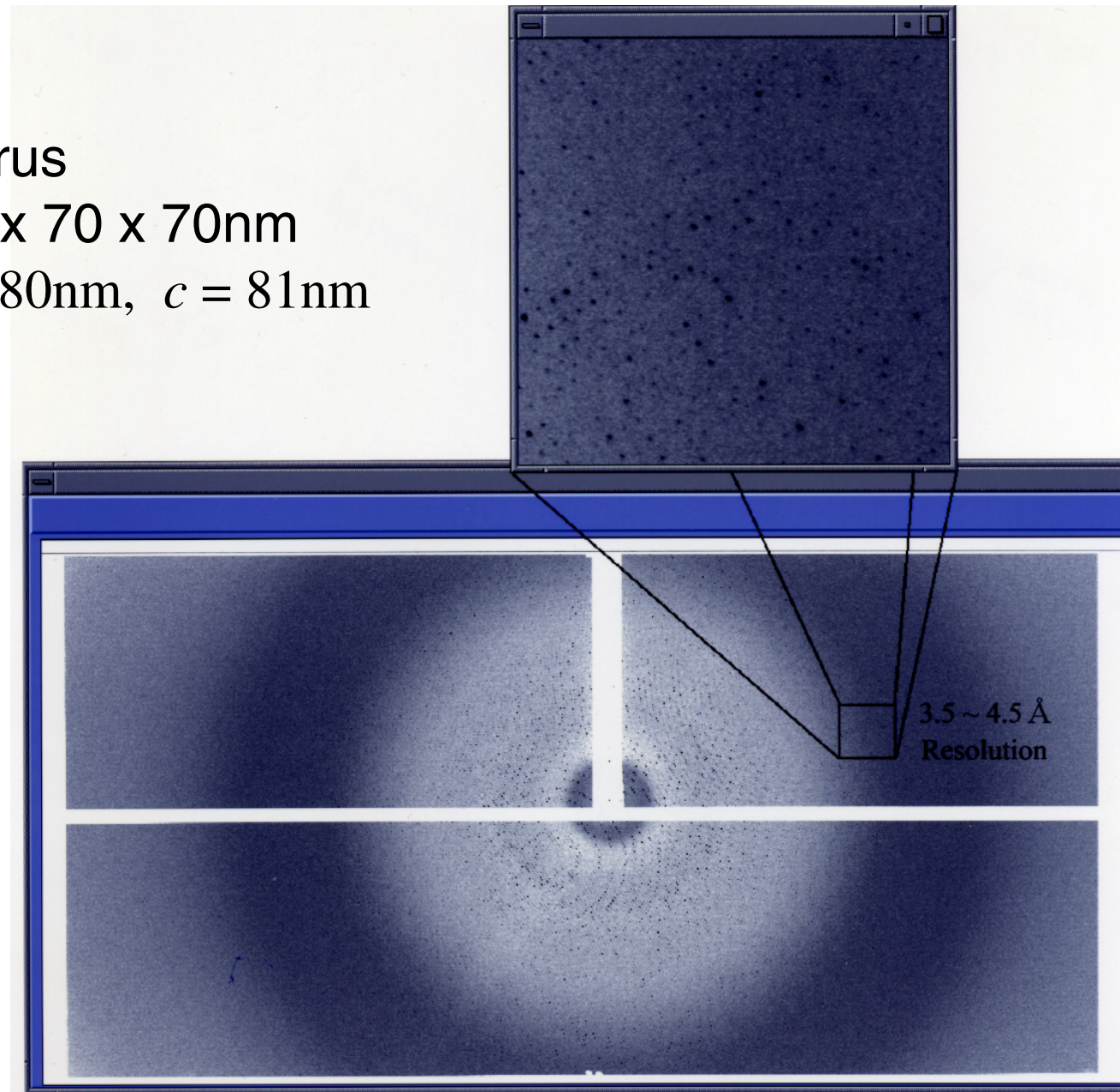
RDV crystal

Particle size (Da)	6.52×10^7
Components	5 protein components (lack of P2 component) 12 segments of dsRNAs
Space Group	<i>I</i> 222
Cell Constants (Å)	$a = 770(2)$ $b = 705(2)$ $c = 814(5)$
Number of Particles in a Unit Cell	2
V_M (Å ³ /Da)	3.8

Rice Dwarf Virus

$M_r \sim 70M$, $70 \times 70 \times 70\text{nm}$

$a = 77\text{nm}$, $b = 80\text{nm}$, $c = 81\text{nm}$



RDV film image. $\lambda = 1.0 \text{ \AA}$, camera distance = 859.5 mm,
oscillation angle = 0.3° , exposure time 200 sec.

RDVの回折強度データ収集

1. テーパー付きキャピラリーに結晶化溶液と共に結晶を詰める
2. 片道振動法による回折実験
3. 200Å分解能の低角の強度データ収集
4. 2000枚を超える回折強度写真撮影

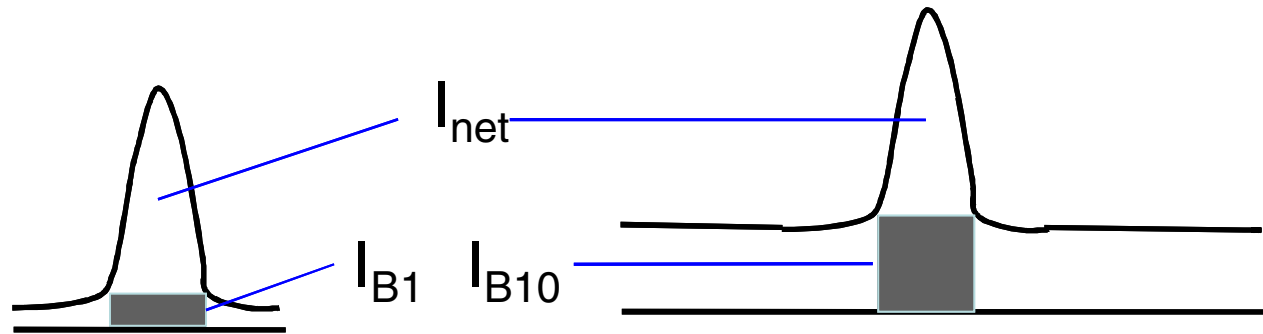
蛋白質結晶のモザイク幅について

凍結することによってモザイク幅は大きくなっている

モザイク幅の小さい結晶で小さい振動幅にすることによって分解能を上げたい

蛋白質結晶のクリスタリットのおおきさは？

高分解能の弱い反射の精度を上げるためには振動幅を小さくすることが重要

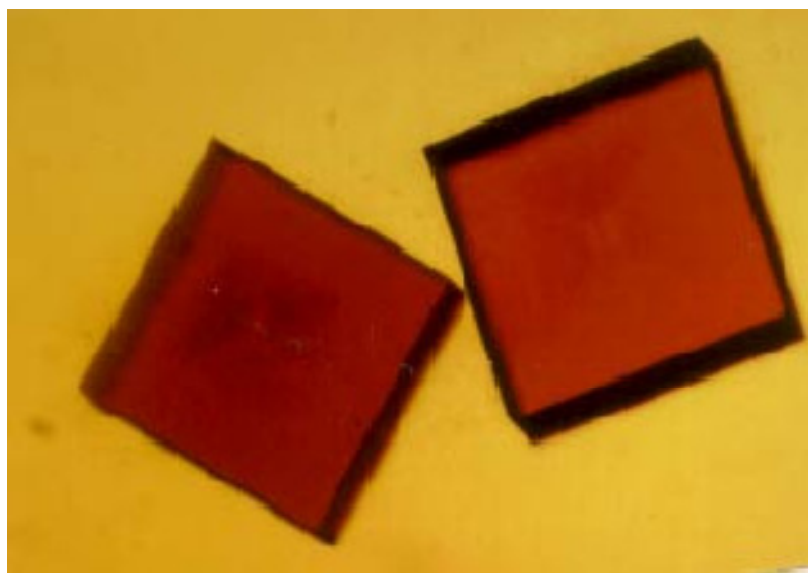


1秒、0.2° 振動による
プロフィール

10秒、1.0° 振動による
プロフィール

$I_{\text{net}} = 3 I_{B1}$ 、 $\sigma_I = I^{1/2}$ と仮定すると1.0° 振動の
S/N は0.2° 振動の $(24/5)^{1/2}$ になる。
モザイク幅の増加はそれに比例した I_{back} の増加
をもたらし S/N を下げる。

ウシ心筋のチトクロム酸化酵素のモザイク幅



$$P2_12_12_1$$
$$a = 178.3 \text{ \AA}$$
$$b = 184.3 \text{ \AA}$$
$$c = 207.6 \text{ \AA}$$

BL6A 280 K

回折像のモザイク幅 0.05°

ビームの拡がりを差し引いた正味のモザイク幅 $0.02-0.03^\circ$

BL44XU 100K

回折像のモザイク幅、正味のモザイク幅 $> 0.15^\circ$

蛋白質結晶のクリスタリットのサイズは？

50 μm であるとすれば 5 μm のビームは分解能を向上させる
ただし、可干渉距離が50 μm 以上である。

クリスタリット内で中心から外に向かって徐々に構造がずれてくることは十分考えられる。2次元結晶では確認されている。クリスタリットが大きいと温度因子の増加になる。

通常の凍結結晶ではモザイク構造があり、クリスタリットは大きくないので、こうした問題は起こらないであろう。

常温で大きな結晶を使う中性子線回折では分解能が低下する可能性がある。その時、凍結してモザイク構造を作って分解能が上がればクリスタリットが意外と大きいことになる。

なぜ回折像を得ることができないのか

どのようにして回折像を得るか

大きな結晶を作り、幸運が重なると回折像を得ることができる

幸運の条件

1. クリスタリットのサイズが $10\mu\text{m}$ 以上
2. X線の可干渉距離が $10\mu\text{m}$ 以上
3. X線損傷が深刻でない