

## 低エネルギーSAD データを用いた蛋白質結晶の位相決定に関する評価実験

五十嵐教之<sup>1</sup>、○伊原健太郎<sup>1</sup>、佐藤匡史<sup>1</sup>、山田悠介<sup>1</sup>、松垣直宏<sup>1</sup>、鈴木守<sup>2</sup>、渡邊信久<sup>1,3</sup>、若槻壮市<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KEK-PF、<sup>2</sup>阪大蛋白研、<sup>3</sup>北大理

近年、1.5~2.0 Å程度の比較的低エネルギーのX線を利用した蛋白質結晶の回折強度データ収集が行われている。システインやメチオニンの硫黄原子に由来する異常分散シグナルを利用して位相決定を行おうというもので、これまでのように重原子誘導体を必要とせず、構造解析のハイスルーput化を大いに推進する手法である。しかし、硫黄原子のような軽原子の異常分散シグナルは微弱であり、回折波の位相決定には高分解能かつ高精度の回折強度データが要求される。最近では、クライオ測定技術の普及や放射光施設の高輝度化、CCD に代表される on-line 型の検出器の進歩にともない、回折強度データを精度良く測定できるようになってきていることから、分子質量が数万程度の典型的な蛋白質の結晶構造解析にもこの手法が一般的に適用されつつある。放射光科学研究施設の PF リングは 2.5 GeV の加速エネルギーで運転されており、1.0 T 程度の磁場により臨界エネルギー 4.0 keV の放射光スペクトルが得られることから、波長 1.5~2.0 Å 程度の X 線を用いた実験に適した放射光源である。特に、PF リングの直線部増強計画により作り出される短直線部に設置予定のミニポールアンジュレータは 3 次光で上記波長領域をカバーすることができる。構造生物学研究センターでは、このミニポールアンジュレータを光源とする新ビームライン BL-17 を建設し、光学系や実験装置も上記波長領域に合わせた設計を行ない、高精度な低エネルギーSAD 実験を行なえるように整備を進める予定である。BL-17 の光学系やその他の装置の設計に役立てるべく、低エネルギーSAD のテスト実験を行なっているが、ここではその一部として、異常散乱シグナルの波長依存性に関する実験と、結晶中の軽原子が位相決定に及ぼす影響に関する実験の結果について紹介する。

### 軽原子の位相決定への寄与

今回位相決定を試みた 4 種の結晶の内、2 種で位相決定に成功した。これら 2 種には蛋白質由来の S 原子だけでなく、溶液やリガンド由来の軽原子(P, Cl, K, Ca 等)が含まれており、硫黄以外の軽原子が位相決定に大きく寄与していることが明らかとなった。硫黄原子だけでは位相決定が難しい状況において、これらの軽原子をより積極的に利用することで、低エネルギーSAD 法の成功率が上昇すると期待される。

### 異常散乱シグナルの波長依存性

成功例 1 ではバイフット差フーリエのピーク高が  $1.9 \text{ \AA} > 1.7 \text{ \AA} > 1.5 \text{ \AA}$  と測定した波長の順となっており、波長依存性があったと考えられる。その一方で成功例 2 ではピーク高は  $1.7 \text{ \AA} > 1.5 \text{ \AA} > 1.9 \text{ \AA}$  であることから、波長依存性は見られなかった。このピーク高の順序はデータ測定の順序と一致することから、放射線損傷によるピーク高の減衰が示唆された。放射線損傷は低エネルギーSAD 法にとって極めて重要な課題であり、波長の最適化等も含めて今後更なる検討が必要である。