



学校法人堀井学園
横浜創英大学

公立大学法人横浜市立大学記者発表資料

文部科学記者会、科学記者会、筑波研究学園都市記者会、大阪科学・大学記者クラブ、
兵庫県政記者クラブ、中播磨県民局記者クラブ、西播磨県民局記者クラブ 同時発表

平成 30 年 3 月 22 日
横浜市立大学
高エネルギー加速器研究機構
高輝度光科学研究センター
横浜創英大学

タンパク質結晶における動力的回折現象の観察に成功 ～より高精度な構造解析法の確立に期待～

～Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS) に掲載（米国 3 月 19 日解禁）～

横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科の鈴木凌（博士後期課程 1 年生）と橘 勝 教授、東北大学の小泉 晴比古 助教（現 名古屋大学 特任講師）、高エネルギー加速器研究機構（KEK）の平野 馨一 准教授、高輝度光科学研究センター（JASRI）の熊坂 崇 主席研究員、横浜創英大学の小島 謙一 教授らの共同研究グループは、世界で初めて、タンパク質結晶における X 線の動力的回折の観察に成功しました。

研究成果のポイント

- タンパク質結晶において、世界で初めて、結晶の完全性の指標となる動力的回折現象の観察に成功した。
- タンパク質の結晶構造解析において、従来は考慮されていない動力的回折理論の必要性を示した。
- 今後さらにタンパク質分子の構造解析の高精度化が期待される。

研究の背景

少子高齢化社会を迎え、病気の原因解明や新規薬剤の開発などを掲げ、タンパク質の立体構造の解明に関する研究が盛んに行われています。多種多様なタンパク質の構造を理解することは、生命現象を理解することにも繋がります。

タンパク質の立体構造の多くは、タンパク質の結晶^[1]を用いた X 線回折によって解明されています。しかし、その精度は、タンパク質結晶の品質に依存するため、構造が明らかにされていても、創薬に使用できるデータは未だ 9 %ほどであると言われています。そのため、より高品質なタンパク質結晶を作製するために、国際宇宙ステーションを利用した微小重力実験をはじめとして、様々な研究が世界中で盛んに行われています。

最近では高品質なタンパク質結晶と放射光による高エネルギー X 線とを用いて高分解能で高精度な構造解析や電子密度の解析が行われるようになりました。特に、電子密度の解析はタンパク質の重要な性質を決めている価電子状態とも深く関係しています。しかし、これらの解析では、依然として回折強度の測定値と理論値に大きな違いが見られます。より高精度の解析にはこれらの改善が必要になります。

結晶による X 線回折は、大きく分けると運動学的回折^[2]と動力的回折^[3]の二つになります。運動学

的回折は、欠陥を含む一般の多くの結晶で観察されます。動力的回折は、半導体結晶のシリコン^[4]のような高品質な完全結晶で起こります。したがって、動力的回折の観察は、結晶の完全性の指標にもなります。しかし、タンパク質結晶では、これまで動力的回折の明瞭な証拠が得られておらず、その結晶品質が依然としてシリコンなどの高品質な結晶に比べて劣るのか、そもそも観察されないのか、タンパク質結晶で動力的回折が観察できるかは長年の課題でした。

研究の内容

本研究グループは、大型放射光^[5]施設の KEK「フォトンファクトリー (PF) ^[6]」の BL-20B および「SPring-8^[7]」の BL38B1 において、酵素タンパク質のひとつであるグルコースイソメラーゼ結晶を用いた X 線トポグラフィ^[8]測定を行いました。用いた結晶は、その X 線トポグラフィ像より、欠陥がなく、等厚干渉縞^[9]の見られる極めて高品質な結晶であることがわかりました (図 1)。

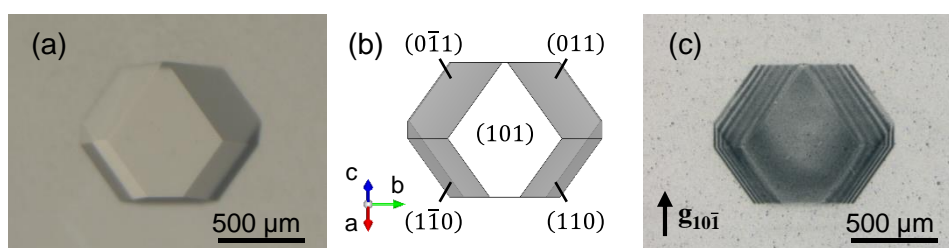


図 1 (a) グルコースイソメラーゼ結晶の光学顕微鏡像、(b) 結晶外形の模式図、
(c) X 線トポグラフィ像 (SPring-8, BL38B1 にて撮影)
完全結晶に近い高品質な結晶でのみ生じる等厚干渉縞が観測された。

このような結晶を用いて、回折 X 線の強度のふるまいを測定するロッキングカーブ測定^[10]を行ったところ、振動現象の観察に初めて成功しました。この振動現象は半導体結晶のシリコンのように完全結晶に近い、極めて高品質な結晶でしか観察されていません。今回、この振動現象が動力的回折によるものであることを確かめるため、2つの依存性を確認しました。1つ目は、入射する X 線の波長における依存性です。得られた回折強度の振動曲線は、波長が大きくなるほど振動の周期が短くなるという理論から予測されるふるまいと非常に良い一致を示しました (図 2)。2つ目は、結晶の厚さにおける依存性です。実験では、結晶の厚さが大きくなるにつれて、回折強度曲線の振動の周期が短くなるふるまいが観測され、こちらも理論から予測されるふるまいと非常に良い一致を示しました (図 3)。以上より、グルコースイソメラーゼ結晶で観察された回折強度の振動現象は回折物理学に基づく動力的回折理論と非常に良い一致を示しました。これは、タンパク質結晶においても動力的回折が起こることを示しています。

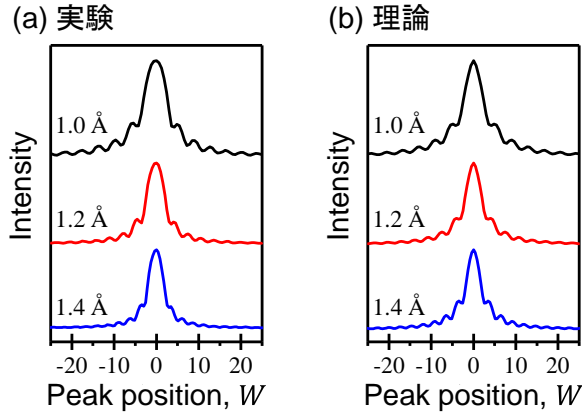


図 2 (a) ロッキングカーブ測定により得られた回折強度の振動曲線 (PF BL-20B で測定)
 (b) 動学的回折理論より予測される理論曲線
 入射 X 線の波長を変化させると、観測される振動の間隔が変化する。

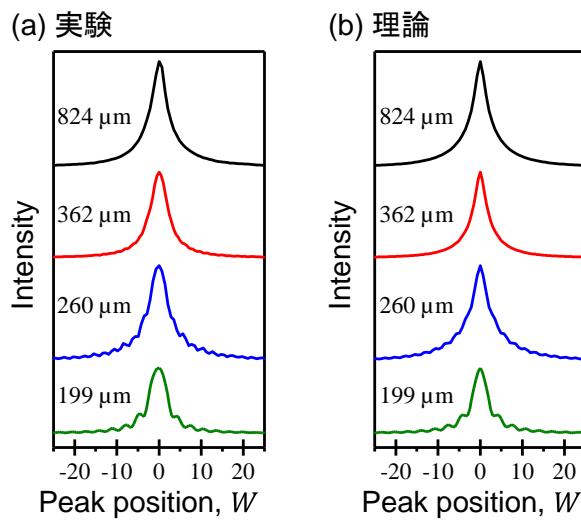


図 3 (a) ロッキングカーブ測定により得られた回折強度の振動曲線 (PF BL-20B で測定)
 (b) 動学的回折理論より予測される理論曲線
 結晶の厚さを変化させると、観測される振動の間隔が変化する。

今後の展開

高品質なタンパク質結晶を用いた立体構造解析において、従来は考慮されていなかった動学的回折理論を取り入れることで、回折強度の解析精度の改善につながり、より高精度な電子密度の評価、さらには理論化学計算との比較によるタンパク質の性質の原理的な理解が期待されます。

用語説明

[1] タンパク質の結晶

タンパク質分子が規則正しく配列した結晶。このタンパク質の結晶による X 回折の強度を解析することによりタンパク質分子の 3 次元構造を知ることができる。

[2] 運動学的回折

入射 X 線が結晶中で 1 回だけ散乱する回折。転位などの結晶欠陥を含んだ一般の結晶で観察される。従来のタンパク質の X 線構造解析では運動学的回折のみを考慮している。

[3] 動力学的回折

入射 X 線が結晶中で多重散乱を起こす回折。シリコンなどの完全性の高い結晶（完全結晶）で観察される。

[4] シリコン

半導体結晶のひとつ。スマートフォンやパソコンなどに欠かせない半導体材料であり、1950 年代後半に欠陥のない完全結晶の育成技術が開発された。

[5] 放射光

電子を光とほぼ等しい速度まで加速させ、電磁石を用いて進行方向を曲げたときに発生する高指向性の強力な電磁波のこと。X 線の波長域を含む。

[6] フォトンファクトリー (PF)

「光の工場」という意味の名で知られる、KEK のつくばキャンパスにある放射光施設。1982 年に運転を開始し、X 線領域では日本で最初の放射光専用加速器である。数度の改造を経て放射光の高輝度化を図ってきた。国内外の大学等から年間 3000 人を超える研究者に利用されている。

[7] SPring-8

SPring-8 の施設名は Super Photon ring-8 GeV (ギガ電子ボルト) に由来する。兵庫県の播磨科学公園都市にある世界最高性能の放射光を生み出す理化学研究所の施設であり、その運転と利用者支援などは高輝度光科学研究センターが行っている。

[8] X 線トポグラフィ

回折 X 線の強度の変化を用いて、結晶内の結晶欠陥を観察する非破壊の手法のこと。本研究では従来の X 線トポグラフィだけでなく、デジタルイメージングを利用したデジタル X 線トポグラフィを用いている。

[9] 等厚干渉縞

くさび形の完全結晶が X 線回折を生じたとき、動力学的回折効果によって透過する X 線と回折する X 線の波長にわずかな差異が生じる。それらが干渉しうなりを起こし、縞が生じる。

[10] ロッキングカーブ測定

入射した X 線により回折が生じている結晶を、連続的に回転するときを得られる回転角に依存した回折 X 線の強度を測定する方法。回折強度の変化を追うことで、結晶の品質を定量的に評価することが出来る。

※本研究は、*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* に掲載されます。

※本研究は、JSPS 科研費 (25420694, 16K06708) および JST 戦略的創造研究推進事業 (ACCEL) (JPMJAC1304) の助成を受けたものです。また、X 線トポグラフィ測定は KEK のフォトンファクトリー-BL-20B (Proposal Nos. 2014G601, 2015G142, 2017G087) および SPring-8 の BL38B1 (Nos. 2014A1850, 2014B1965, 2015A1994, 2015B1979, 2017A2562) にて行われました。

掲載論文

Analysis of oscillatory rocking curve by dynamical diffraction in protein crystals

Ryo Suzuki, Haruhiko Koizumi, Keiichi Hirano, Takashi Kumasaka, Kenichi Kojima, and Masaru Tachibana

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, March, 2018

<お問い合わせ先>



公立大学法人横浜市立大学
(研究内容に関するお問い合わせ)
大学院生命ナノシステム科学研究科 教授 橘 勝
TEL : 045-787-2307 E-mail : tachiban@yokohama-cu.ac.jp

(プレスリリースに関するお問い合わせ、取材対応窓口、資料請求等)
研究企画・産学連携推進課長 渡邊 誠
TEL : 045-787-2510 E-mail : kenki@yokohama-cu.ac.jp



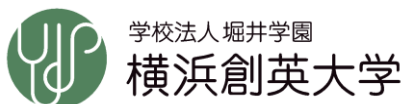
大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構
(研究内容に関するお問い合わせ)
物質構造科学研究所 准教授 平野 馨一
TEL : 029-864-5596 E-mail : keiichi.hirano@kek.jp

(プレスリリースに関するお問い合わせ、取材対応窓口、資料請求等)
社会連携部広報室
TEL : 029-879-6047 E-mail : press@kek.jp



公益財団法人 高輝度光科学研究センター
(研究内容に関するお問い合わせ)
タンパク質結晶解析推進室 主席研究員 熊坂 崇
TEL : 0791-58-0833 E-mail : kumasaka@spring8.or.jp

(SPring-8/SACLA に関すること)
利用推進部 普及情報課
TEL : 0791-58-2785 E-mail : kouhou@spring8.or.jp



学校法人堀井学園 横浜創英大学
(お問い合わせ) 横浜創英大学総務企画部企画課
TEL : 045-922-5641 E-mail:kikaku@soei.ac.jp