

SPring8、SACLAが蛋白質構造研究に果たす役割

理化学研究所・放射光科学総合研究センター基盤研究部 部長 山本雅貴



【略歴】

1991年 大阪大学大学院理学研究科博士後期課程修了 博士(理学)取得 理化学研究所研究員
2004年 高輝度光科学研究センター 利用研究促進部門 副部門長兼務 (2006年まで)
2004年 理化学研究所 播磨研究所 研究技術開発室 室長
2005年 兵庫県立大学大学院 生命理学研究科 連携分野 客員教授
2008年 理化学研究所 播磨研究所 放射光科学総合研究センター 基盤研究部 部長
2011年 放射光科学総合研究センター 利用システム開発研究部門 部門長
2013年 放射光科学総合研究センター ビームライン基盤研究部 部長

1. はじめに

複雑な生命現象においてその多種多様な生命機能を実現する蛋白質は、ゲノムに記録された遺伝情報を基にアミノ酸の特異的な配列を持ったポリペプチド鎖として合成され、機能を実現するために合理的な三次元立体構造に折り畳まれる。生命現象を理解には、生体内の各種反応を制御している酵素など蛋白質の立体構造と機能の関係を分子レベルで解析することが不可欠である。そのため蛋白質の機能を立体構造から解析する構造生物学は、生命科学において重要な分野となっている。現在、蛋白質などの生体高分子の立体構造決定は、X線結晶構造解析を主要な実験手法として解析が進められている。結晶構造解析は1990年代後半より、結晶化スクリーニング試薬をはじめとした蛋白質結晶化技術の進歩や放射光利用などX線光源の高輝度化や位相決定・解析計算の高度化など、さまざまな技術革新によりその解析能力を飛躍的に向上させてきた。その技術向上に伴い大規模な構造生物学プロジェクトがポストゲノム研究の主役として世界各国で推進されている。これにより、構造解析のハイスループット化や膜蛋白質などの高難度サンプルを対象とした研究基盤の開発整備が進み、これまで解析が困難であった生物学的に重要な膜蛋白質等にも焦点をあてた研究が進んできている。

2. SPring-8での蛋白質構造解析

1990年代から、放射光による蛋白質結晶構造解析が盛んに行われるようになってきた。実験室のX線装置に比べ数桁ビーム輝度が高く波長が可変である放射光は、蛋白質結晶構造解析の実験手法や測定精度に近年飛躍的な進歩をもたらした¹⁾。蛋白質結晶構造解析においてこの放射光のはたすべき役割は、従来は解析が困難だったサンプルへの解析範囲の拡大と構造決定の迅速化である。SPring-8は、世界最大の高輝度放射光施設として1997年の利用開始から現在まで、上記目標にむけたビームラインの建設・高度化を進めている。解析可能サンプルの拡大では、理研ターゲットタンパクビームライン (BL32XU)²⁾のマイクロビーム、構造生物学 Iビームライン (BL41XU) の大強度ビーム、生体超分子複合体構造解析ビームライン (BL44XU) の巨大結晶格子対応等により、10 μ m以下の微小結晶やウイルスなど1,000Å程度の格子長をもつ超分子複合体結晶からの構造解析を可能にした。また、結晶構造解析の迅速化は、理研構造ゲノムビームライン(BL26B1&B2)のサンプルチェンジャー開発³⁾や測定制御の自動化により、回折強度測定の簡便化・高効率化を推進している。

3. 不可能を可能にする微小結晶構造解析⁴⁾

理研ターゲットタンパクビームライン (BL32XU) は、ビーム輝度の高いマイクロビームを用いることで、結晶化の難しい膜蛋白質等の微小結晶からの構造解析を目標にしている。このビームラインは真空封止ハイブリッドアンジュレータからの高輝度放射光を超平坦ミラーで二次元集光することにより、試料位置で1~10 μ m角サイズで10¹⁰ photons/sec/ μ m²という世界最高輝度のマイクロビームを実現している。この1 μ m角のマイクロビームにより5 μ mサイズの微小結晶から2Å分解能でのデータ収集に成功している。この様にBL32XUのマイクロビームは、これまで解析不可能だった10 μ mサイズ以下の微小結晶からの回折強度データ収集を可能とした。一方、この超高輝度マイクロビームは放射線と蛋白質の相互作用として原理的に避けられない深刻な放射線損傷²³⁾を引き起こしている。そこで、我々は放射線損傷を低減しながら良好な回折強度を測定するため、マイクロビームで結晶上のX線照射位置を移動させながら回折強度を測定する「ヘリカルデータ収集法」を開発し、超高輝度マイクロビームに最適な測定戦略を提案している。この測定支援システムにより、チャンネルロドプシンなどの膜蛋白質微小結晶からの高精度タンパク質構造決定に成功している

4. 蛋白質構造機能研究の将来に向けた SACLA

2007年より SPring-8 に隣接して、革新的な X 線光源として X 線自由電子レーザー施設 SACLA (SPring-8 Angstrom Compact free electron Laser: さくら) の建設を進め、昨年3月より一般ユーザーに向けて供用を開始した。SACLA の XFEL 光は SPring-8 の X 線に比べて 10 億倍の輝度を持ち、10 兆分の 1 秒 (100 フェムト秒) という極短パルスで、完全に位相のそろった X 線を発生する⁵⁾。これにより、今まで見ることでできなかったフェムト秒領域という超高速で原子の世界を映し出すことが可能になる。

蛋白質結晶構造解析でも、SACLA の極短パルス XFEL 光を利用して、生体内での蛋白質などの精密な反応過程を「あるがままの形」で明らかにすることを目的とした研究が開始された。ここでは、まず SPring-8 等の既存の高輝度放射光では実現不可能であった、反応過程の活性状態の放射線損傷の無い「静的」な構造解析を実現する。さらに、外部からのポンプ光により反応過程を制御して「動的」な構造解析を目指している。これらの解析によって得られる、放射線損傷の無い高分解能構造情報をもとにした蛋白質の動的構造 (機能発現時における構造変化や短寿命反応中間体の構造) 情報は、標的蛋白質の反応機構と生理機能を原子・電子レベルで解明することに役立つと期待される。

5. おわりに

蛋白質結晶構造解析では良質で大きな結晶が精度よく回折強度データを収集し、効率的に構造解析を行うための近道である。しかし、結晶化には多大な労力と時間を必要とし、またそれらを達成出来ない場合も散見される。このような状況で BL32XU のマイクロビームは、いままで困難とされていた微小結晶からの構造解析を可能とし、より多くの生命現象の理解にむけて重要な蛋白質の構造解析への貢献が期待される。また、SACLA の革新的な X 線レーザーの登場により、蛋白質構造機能研究に向けた「動的構造解析」の進展が見込まれている。



播磨科学研究公園都市 SPring-8 キャンパスの全景

参考文献

- 1) Helliwell, J.R.: "Macromolecular Crystallography with Synchrotron Radiation", Cambridge University Press, (1992).
- 2) Hirata K, *et al* and Yamamoto M.: *AIP Conf Proc* **1234**:901-904 (2010)
- 3) Murakami H. *et al* and Yamamoto M: *J. Appl. Cryst.* **45**, 234-238 (2012)
- 4) Smith J.L. Fischetti R.F. and Yamamoto M.: *Current Opinion in Structural Biology* **22**:602-612 (2012)
- 5) Ishikawa T. *et al* and Kumagai N.: *Nature Photon.* **6**, 540-544 (2012)