

X 線 CCD カメラ短距離フレーム導入による タンパク質結晶の高分解能測定

河本 正秀

九州シンクロトロン光研究センター

これまでの BL07 のタンパク質結晶 X 線回折ステーションにおける検出器距離の制限は、試料結晶観察用カメラ鏡筒と X 線 CCD 検出器ケースフレームが接触する距離である 75mm が最短であった。近代的なタンパク質結晶 X 線回折計における試料結晶周りは、ゴニオメータ・自動センタリングステージ・ビームコリメータ・ダイレクトビームストッパや、試料観察用カメラ・試料冷却用吹出しノズル等の機器が互いに干渉しない位置関係でひしめき合っており、BL07 においては、検出器距離を短くするために試料結晶観察用カメラの位置を変えるのは事実上不可能であった。

一般的なタンパク質結晶の X 線回折実験で用いられる波長範囲 ($1 \sim 1.5 \text{\AA}$) では、この 75mm という検出器距離でも最大分解能 $1.8 \text{\AA}$ 以上の回折データを収集することができた。しかし、S-SAD (イオウの異常分散を用いた位相決定法) のような $2.1 \text{\AA}$ を超える長波長での測定では、最大 $2.4 \text{\AA}$ 程度という低分解能の回折データしか収集できず、それが原因で解析に失敗することがわかった。

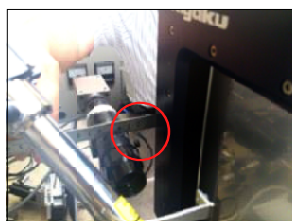
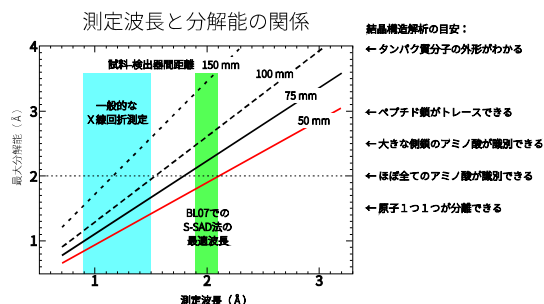
そこで、より短い検出器よりを実現できるよう、X 線 CCD 検出器そのもののケースフレームを、試料観察用カメラとぶつからないよう張り出し部分の少ないものに交換した。この交換によって最短検出器距離が 50mm と短くなり、測定波長 $2.1 \text{\AA}$ での最大分解能が $2.0 \text{\AA}$ と向上した。

X線CCDカメラ短距離フレーム導入による タンパク質結晶の高分解能測定

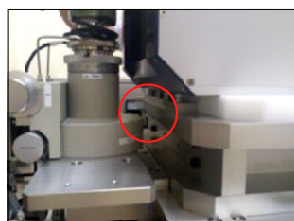
河本 正秀（九州シンクロトロン光研究センター）

タンパク質結晶X線構造解析において、「どの回折角までデータが収集できたか」は「最大分解能」と呼ばれ、得られる電子密度マップの精細さを決定するパラメータとなる。

高分解能の回折データが得られるほど、タンパク質分子の正確な立体構造が決定でき、反応機構の詳細な議論が可能になる。



CCD検出器フレームと結晶観察カメラが干渉



検出器マウントとゴニオメータハウジングが干渉

二次元検出器を用いた回転写真法による回折データ収集では、最大分解能は「測定波長・検出器サイズ・試料-検出器間距離」によって決まる。

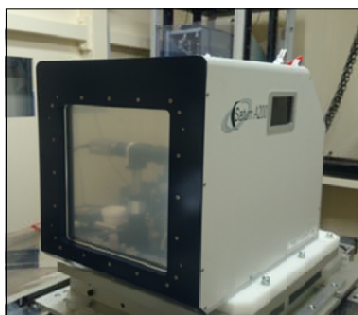
BL07のタンパク質結晶用X線回折計では、CCD検出器のフレーム形状や取付けマウントの位置の関係から、試料-検出器感距離は最短 75 mm であり、S-SAD法のような測定波長 2 Å を超える長波長測定時には最大分解能が不足していた。

そこで、試料-検出器間の短距離化を目的に、

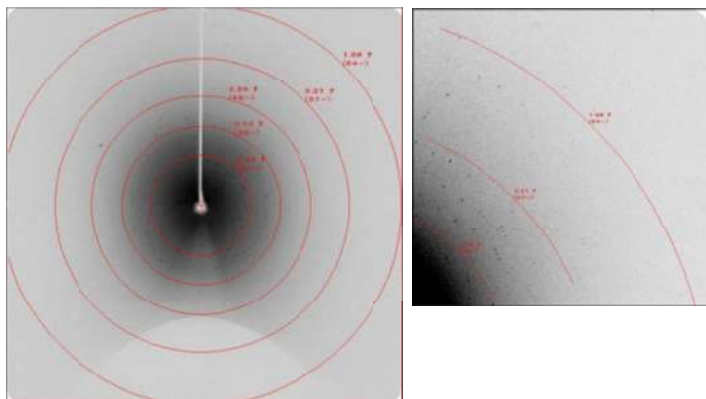
- ・ CCD検出器をフラットなフレームに換装
- ・ マウントへの取り付け位置を変更

する改造作業をおこなった。

この改造により、試料-検出器間距離は、**最短 50 mm** にまで短縮化された。



ソーマチン結晶の波長 2.1 Å での回折イメージ



これにより、BL07におけるS-SAD法の最適波長である波長 2.1 Å において、最大 2.0 Å 分解能までの回折データが収集できるようになった。

最大分解能が向上したことで、精細な電子密度マップによるタンパク質分子の正確な立体構造決定が可能になるとともに、溶媒含量の低いタンパク質結晶についてもS-SAD法適用の成功率向上が見込める。