

アメリカ結晶学会年会（1999）参加記

三共株式会社 伊藤秀一郎

5月22～27日の日程で、ニューヨーク州バッファローにて開催されたアメリカ結晶学会年會に参加しましたので、年會の様子を紹介します。

本年は参加者約600名を集めて、口頭発表約250題、ポスター発表約200題が行われました。口頭発表の多くは招待講演者のようであり、既に三次元構造が論文で発表済み又は印刷中の研究の中から、論文に詳しくは記述されていない「構造解析手法」や「実験例」に焦点をあてたセッションや発表が多く、大変有意義でした。ここでは「結晶化実験の前段階」「X線回折強度データ収集」について簡単に述べ、最後に雑感を記します。

結晶化実験の前段階

結晶化に関するキーワードは「crystallizability」であり、「結晶の得られ易さ」の意味で使用されていた。市販されているSparse matrix法など成功率の高いスクリーニング用結晶化沈殿剤キットで微結晶が得られない場合には、細かく沈殿剤条件を変化させるのではなく、結晶化直前のスタート試料に問題があると考えることが一般的になり、このことを「right protein crystal easily obtained」と表現していた。そこでcrystallizability向上を目指した、「結晶化条件パラメータの一つとしてのタンパク質エンジニアリング」に関してセッションが生まれ、具体例では「発現ベクター、宿主、培養条件、タンパク質ドメイン境界の再選択、修飾位置の除去、溶解性を上げるための変異」などが発表された。現時点では成功のための一般的な戦略はなく、「多様性のある戦略をとる」、「多種類のスタート試料を作製する」ことが強調され、「数少ない（10個程度）の変異で十分な効果（crystallizabilityの向上）を得てきた」との発表もあった。結晶化セッション以外でも、結晶化用タンパク質エンジニアリングを行っ

ている発表が多く、タンパク質結晶化の成否はタンパク質化学及び改変のテクニックの力量に依存するとの印象を受けた。

X線回折強度データ収集

第3世代放射光施設（APS、ESRF）に関するセッションが生まれ、その中でIMCAビームインの紹介が行われた。IMCAはThe Industrial Macromolecular Crystallography Associationの略であり、APSでX線回折強度収集システムを共同運営利用している民間企業12社が設立した団体である。演者の所属しているIMCA-CAT（The IMCA Collaborative Access Team）は、実験ステーションの設計、建設を行い、現在メンテナンスを行っている8名のpermanentスタッフからなる団体である。発表は、建設した2つの実験ステーションの紹介であった

（詳しくは、<http://www.imca.aps.anl.gov/>）。

また、ここ数年のCCD検出器の急速な進歩で、海外の放射光施設ではCCDが標準検出器となっていた。CCD検出器の最大の利点はイメージ読み取り時間が短いことであり、放射光ではX線露光時間が短いのでこの利点は非常に大きい。

雑感

本年会に参加して、ここ数年の技術進歩により構造解析のスピード及び手法が変わってきたことを実感しました。この進歩とはそれぞれ開発時期の異なる「放射光 + CCD検出器 + 極低温測定 + MAD法位相決定」の4手法の組み合わせです。この組み合わせにより測定スピードアップのみならず、測定データの質が大幅に向上することから、測定後の処理法（分子モデル構築、精密化）が変化し、さらに解析全体が加速度的にスピードアップすると期待されます。

各製薬、化学企業に共通していると思いますが、民間企業がX線結晶構造解析従事者に求めることは「三次元構造情報の具体的な有用性、成果」です。これを実施するためには、「構造解析のスピード」が重要であり、「結晶化に適したサンプルの大量発現系、精製プロトコ

ールの確立」、「結晶化条件確立、回折強度測定、位相決定」、「(各種複合体などの)結晶化、回折強度測定、分子モデル作製のサイクル」それぞれの段階のスピードアップが必要です。X線結晶構造解析のスピードはここ数年で飛躍的に早くなりましたが、他の研究分野のスピードも非常に早くなっており、よりいっそうのスピードアップが望まれています。

X線回折実験法及び構造解析法はかなり進歩したので、残された課題の一つは良質結晶の作製法開発です。古典的な意味での結晶化テクニックは成功率の高い方法(沈殿剤キット、シーディング法など)が開発されているので、現在は遺伝子操作による結晶化用スタート試料の質の向上が行われています。未だ成功率の高い標準法は確立されていないが、結晶化沈殿剤キットのように「経験的レシピ」の実現を期待しています。

また本稿では述べませんでしたが、Structural Genomics分野にも注目しています。この分野は種々の応用が考えられますが、上記スピードアップの一環として、「各種フォールドの三次元構造」と「C α のrmsd値2 Å以上又はアミノ酸一致度20%以下でも解析可能な分子置換法、精密化法」の実現に期待しています。さらに将来ヒト又は実験動物の「cellular機能不明」タンパク質の「結晶化条件(又は結晶ができなかったことも貴重な情報です)及び位相情報、分子モデル」のデータベースができることを期待しています。

最後に

年会開催中多くの行事が行われ、多数の参加者と知り合い、話す「場」が設けられました。日本国内の知人の少ない学会よりも快適に過ごせますので、若い方(学生の方)が参加されることを強くお勧めします。

以上