



Title	Strategy of X-ray Diffraction Data Acquisition on Third Generation Synchrotron Facilities
Author(s)	富崎, 孝司
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42930
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	富 崎 孝 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 8 5 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 6 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Strategy of X-ray Diffraction Data Acquisition on Third Generation Synchrotron Facilities (第 3 世代放射光を用いた回折強度収集法)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 月 原 富 武 (副査) 教 授 田 代 孝 二 助教授 松 浦 良 樹 助教授 楠 木 正 己

論 文 内 容 の 要 旨

X線結晶構造解析は生体高分子の立体構造を決定する最も有力な手法として使われるようになった。より精度の高い回折強度は解析の過程を簡単にし、迅速な構造解析を可能にする。放射光利用はこの目的を達成する有力な方向である。著者は分子量が40万を越えるチトクロム酸化酵素の2.8Å分解能でのX線結晶構造解析に参画し、第2世代放射光である高エネルギー物理学研究所放射光施設で極めて精度の高い回折強度収集を行った。その精度の高さがこの大きな分子の立体構造解析に導き、我々の回折強度収集法が正しいものであることを確信した。

さらに大きな格子を持つ結晶、さらに小さな微小結晶をも対象にして構造解析をしたいと考えた場合、より強力な放射光が必要であった。欧州放射光施設(ESRF)でそれを有効に利用するための方法を検討した。ここでは、第2世代放射光施設によるチトクロム酸化酵素の回折強度収集と、第3世代放射光での回折強度収集について述べる。

チトクロム酸化酵素は13種26サブユニットからなる分子量約40万の膜タンパク質複合体である。この非常に分子量の大きな生体高分子に重原子置換法を適用するため、これまでにはない精度で回折実験を行う必要があった。このため放射光を用いて、1度という非常に少ない振動範囲と長い露出時間で回折実験を行い、なおかつ振動領域の重なりをとらないで回折像を撮影した。この方法は当時の常法とは異なったが、結果として極めて良好な電子密度を得ることに成功し、1.5電子当量という小さな異常分散項の差を検出することにも成功してチトクロム酸化酵素中の金属の位置、種類を同定することが出来た。このことから、高精度の回折強度によってより大きな生体高分子の解析が可能になることを示した。また、さらに高精度の回折強度を収集するための実験方法の方向性も確認することが出来た。

第2世代放射光施設に比べ、圧倒的に高輝度のX線を発生する第3世代放射光施設はX線結晶構造解析の可能性を一気に広げることは明らかである。しかし、その可能性を実現するには数々の克服すべき問題もあった。著者はESRFでのビームラインの建設とそこでのX線結晶構造解析のプロジェクトのいくつかに参画し、第3世代放射光施設での回折実験法の確立のため以下のようなことを行った。

1. 大型イメージングプレートスキャナ用のデータベースシステムの開発

放射光施設は不特定多数の利用者が使用する。利用者の熟練度は多数であり、全ての利用者がビームラインの性能

を最大限に発揮できるようにするのは容易ではない。これを克服するために回折実験のプロセスを極力自動化するためのデータベースシステム及び計算機上のサーバを構築・作成した。

2. ビームライン及びスキャナの性能評価

ビームラインの性能評価を兼ねて、トロピノンレダクターゼの結晶を用いて回折実験及び構造解析を行い1.9 Å分解能により立体構造を明らかにすることに成功した。これにより、ビームライン及びスキャナの性能が妥当であることを確認した。

3. 微小結晶を用いた回折強度収集

断面の一辺が10ミクロンを切るような大きさの結晶から回折強度を収集することに成功した。これによりビームラインのX線の平衡性の高さが確認された。今まで解析できないと諦められていた結晶が使用可能であることを実証した。

第3世代放射光施設を使用することによって、従来では構造解析は不可能であると考えられていた結晶から回折強度を収集することが可能であることを実証した。第3世代放射光のビームラインが生体高分子の立体構造解析に大きく貢献することを確信した。

論文審査の結果の要旨

富崎君の論文は第3世代放射光を用いたX線回折強度測定法に関するものである。第2世代放射光による分子量が40万を越える膜蛋白質複合体の回折実験法の成功に基づいて、第3世代放射光ビームライン (QUADRIGA) でのユーザーフレンドリーな回折実験システムの開発とその評価、第3世代放射光を利用した巨大な格子の回折強度データ収集法、10ミクロンを切る蛋白質の微小結晶を用いた回折強度データ収集法を確立した。よって、この論文は博士(理学)の学位論文として十分価値のあるものと認める。