

# 高輝度放射光によるタンパク質結晶構造解析の現状と問題点

河本正秀	財団法人高輝度光科学研究センター	〒679-5198 兵庫県佐用郡三日月町光都 1-1-1
酒井久伸	財団法人高輝度光科学研究センター	〒679-5198 兵庫県佐用郡三日月町光都 1-1-1
井田 孝	北里大学理学部生物科学科	〒228-8555 神奈川県相模原市北里 1-15-1
上野 剛	独立法人理化学研究所播磨研究所	〒679-5148 兵庫県佐用郡三日月町光都 1-1-1
山本雅貴	独立法人理化学研究所播磨研究所	〒679-5198 兵庫県佐用郡三日月町光都 1-1-1
	財団法人高輝度光科学研究センター	〒679-5148 兵庫県佐用郡三日月町光都 1-1-1

**要旨** タンパク質結晶構造解析は放射光施設の高輝度かつ波長可変な X 線の利用により、飛躍的な進歩を遂げた。SPring-8 をはじめとする第 3 世代放射光施設においては、挿入光源より発する超高輝度光を活用した、微小結晶の構造解析や迅速回折データ収集に向けたビームラインの研究開発が進められ、大きな成果を上げている。その一方、光源の高輝度化に伴い試料結晶の放射線による損傷が再び問題となり、実験手法の改善等解決に向けたさまざまな試みが行なわれている。

## 1. はじめに

21世紀に入り人間の設計図であるヒトゲノムの全 DNA 配列解読完了をうけたポストゲノム研究の一環として、広範囲にわたるタンパク質の立体構造情報の蓄積をめざす構造ゲノムプロジェクトが世界各国で進められている<sup>1)</sup>。日本でも平成14年度から「タンパク3000プロジェクト」がスタートし<sup>2)</sup>、5年間に3000種以上のタンパク質についてその立体構造と働きを解明しようとしている。生命機能を司る分子機械であるタンパク質は、20種類のアミノ酸が直線状に並んだ高分子鎖であり、遺伝情報によって直接作られる唯一かつ最終の産物である。その巧妙に折り畳まれた安定な立体構造はその分子機械としての機能と深い関係を持つ。近年の構造生物学や構造ゲノム科学研究に代表されるように、そのタンパク質の立体構造に多くの関心が寄せられるようになってきた。

現在、タンパク質の立体構造決定には、X線結晶構造解析法が広く用いられている。この手法は、タンパク質単体だけではなくタンパク質複合体・核酸など広範囲にわたる生体高分子について原子レベルでの立体構造を明らかにすることができる。実験室の X 線発生装置に比べ数桁 X 線輝度が高く波長可変の放射光 (Synchrotron Radiation) がタンパク質 X 線結晶構造解析にも利用されるようになり、飛躍的な進歩をもたらしている<sup>3)</sup>。放射光の高輝度性は、今まで回折強度不足で解析不可能であった100  $\mu\text{m}$  以下の微小サイズ結晶での構造決定を可能にした。また、放射光の波長可変性により、金属などの異常散乱原子

を含んだ結晶の位相決定に、多波長異常分散法 (Multi-wavelength Anomalous Diffraction method, MAD 法) が開発され、構造決定の簡便化をもたらした<sup>4)</sup>。

SPring-8<sup>5)</sup>は、兵庫県西部の相生市から北約20 km に位置する播磨科学公園都市に設置された第三世代放射光施設で、その蓄積リングは周長1436 m と世界最大を誇っている。その蓄積リングから放射光を導くビームラインは合計62本の利用が可能であり、現在、全体の3/4以上にあたる48本のビームラインが供用中もしくは建設中である。そのうち11本のビームラインにおいてタンパク質結晶構造解析の実験が可能で、タンパク質結晶構造解析は今や SPring-8 の主要な研究テーマの一つとなっている<sup>6)</sup>。

本稿では、世界最大規模の第3世代放射光施設として建設された SPring-8 のタンパク質結晶構造解析用ビームラインとくに BL41XU の現状を紹介するとともに、高輝度放射光の利用にともない深刻化した放射線損傷の問題について記述する。

## 2. SPring-8 のタンパク質結晶構造解析用ビームライン

タンパク質結晶構造解析において放射光ビームラインに期待されているのは、従来解析が困難だった対象サンプルへの解析可能範囲の拡大と構造決定の簡便化・迅速化である。SPring-8 でも、上記の二つの目標にむけてビームラインの建設・高度化が進められている。現在、SPring-8 にはタンパク質結晶構造解析に利用できる放射光ビームラ

インが合計11本ある (<http://www.spring8.or.jp/JAPANESE/facility/bl/index.html> を参照)。

解析可能範囲の拡大は、構造生物学Iビームライン(BL41XU)<sup>7)</sup>や生体超分子複合体構造解析ビームライン(BL44XU)<sup>8)</sup>を中心に進めている。従来構造解析が出来なかった厚さ10  $\mu\text{m}$  以下の微小結晶や分子量1千万を越えるウィルスなど1,000  $\text{\AA}$  程度の格子長をもつ超分子複合体結晶の回折実験がこれらのビームラインによって可能となった。これには、第三世代放射光の最大の特徴である高輝度放射光を発生する挿入光源装置アンジュレータが大きな役割を担っている。

一方、構造決定の簡便化・迅速化にむけて、理研構造生物学ビームラインI (BL45XU)<sup>9)</sup>や偏向電磁石ビームラインを中心に、多波長異常分散法(MAD法)による回折強度データ収集の迅速化・簡便化に向けた努力が進められている。さらに、サンプルチェンジャーの開発やビームライン制御の自動化により、ビームライン回折強度測定 of 完全自動化・高効率化が切り拓かれようとしている。

### 3. BL41XU (構造生物学 I)

#### 3.1 BL41XU の特長

BL41XU (構造生物学 I) は、SPring-8 に3本あるタンパク質結晶構造解析用共同利用ビームラインのうちの1本である。このビームラインの最大の特徴は、光源としてSPring-8 標準真空封止型アンジュレータ<sup>10)</sup>を採用していることである。このアンジュレータから発生する高輝度・高平行性のX線を用いることで、数十  $\mu\text{m}$  の微小結晶や

結晶格子が長く回折能が弱い超分子複合体結晶からも高精度のデータ収集が可能である。

#### 3.2 ビームライン光学系

Fig. 1 に BL41XU の光学機器構成を示す。アンジュレータからのX線は、光源から35.9 mにあるSi(111)を分光素子とする2結晶分光器によって単色化される。この2結晶分光器では、結晶が回転傾斜配置されており、第一結晶はピンポスト加工したSi結晶を直接水冷して用いることでアンジュレータ光の高い熱負荷に対応する設計<sup>11)</sup>になっている。蓄積電流100 mAでの各エネルギーのロックンクカーブをFig. 2に示すが、高熱負荷にも充分対応していることが分かる。

2結晶分光器によって分光されたX線は、光源から44 mにある水平集光用ミラーと、45 mにある垂直集光用ミラーの2枚によって集光される。水平集光用ミラーは70 cm長の熔融石英、垂直集光用ミラーは33 cm長の単結晶シリコンを母材とし、各々反射角3.5 mradで用いられている。また、各ミラーは3種類(ロジウム・プラチナ・高エネルギー用スーパーミラー)の反射材を使用しており、利用するX線のエネルギーに応じて切り替えることができる。

これらの光学機器により分光・集光されたX線は実験ハッチに入射し、回折実験に供される。利用可能なエネルギー範囲は、6.5~17.5 keV(アンジュレータ1次光利用)、19.0~37.5 keV(アンジュレータ3次光利用)で、そのX線強度は12 keV付近で最大 $2 \times 10^{13}$  photons/sec.以上に達する(Fig. 3)。これはSPring-8の偏向電磁石を用いた

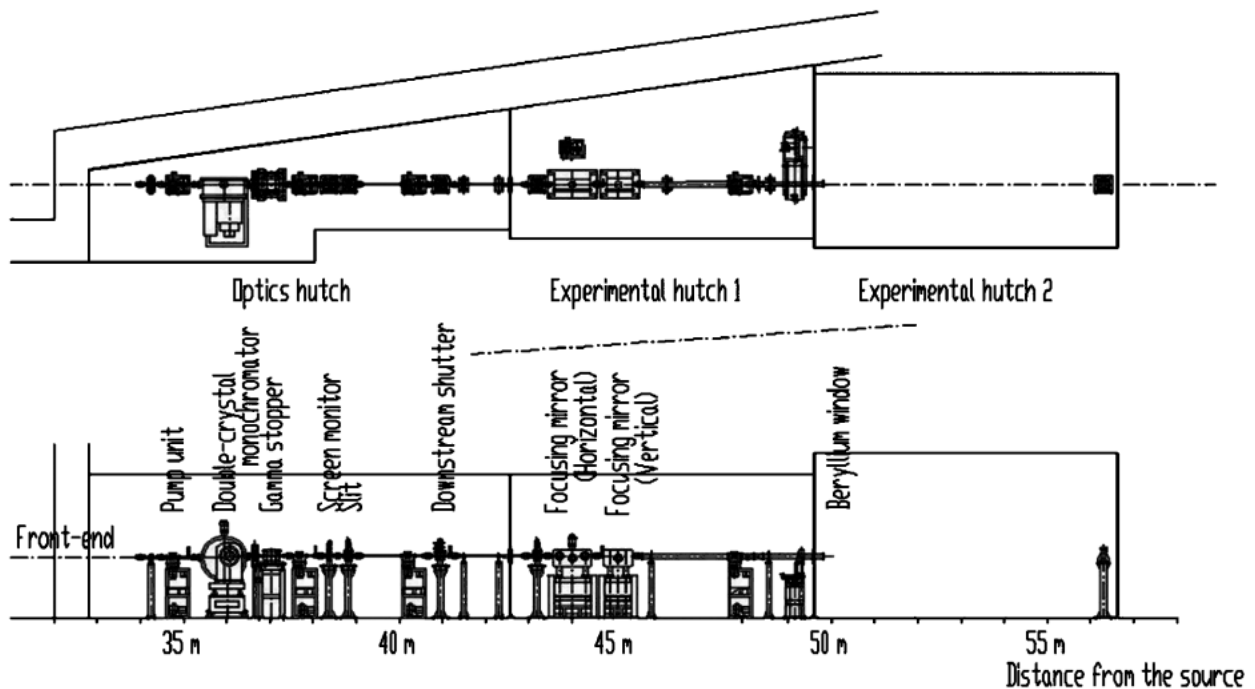


Fig. 1 Schematic view of beamline BL41XU at SPring-8.

タンパク結晶構造解析用ビームラインより2桁以上高い。また試料位置（光源から約52 m）でのビームサイズは水平・垂直方向とも半値幅で150  $\mu\text{m}$  以下である (Fig. 4)。

BL41XU では2004年夏に集光光学系の改良を計画している。水平・垂直集光用の2枚のミラーは1997年の共用開始以来そのまま使い続けており、それぞれのミラーの反射率が初期の7割程度、ミラー集光系全体のスループットは初期の50%程度にまで低下している。そこで、水平集光用ミラーを新規にロジウムコートされた70 cm長単結晶シリコンのものに置き換えて、1枚のミラーによる水平集光光学系とする。これにより、トータルでのX線強度が現状の約2倍向上すると見込まれる。また、垂直方向

はミラーによる集光を行わないが、アンジュレータビームの高指向性を生かして垂直方向のビームサイズは300  $\mu\text{m}$  以下になることが見込まれる。この結果、集光ミラー系の更新にともない試料に照射されるビーム強度を大きく変えることなくサンプル位置でのビームの高平行度を達成する。

### 3.3 実験ステーション

BL41XU の実験ハッチ内を Fig. 5 に示す。実験ステージには、SPring-8の理研構造ゲノムビームライン<sup>12)</sup>や創薬産業ビームライン<sup>13)</sup>で用いられているものをSPring-8標準として採用している。この実験ステージは試料前位置に2組のX線用4象限スリットが用意されており、上流側

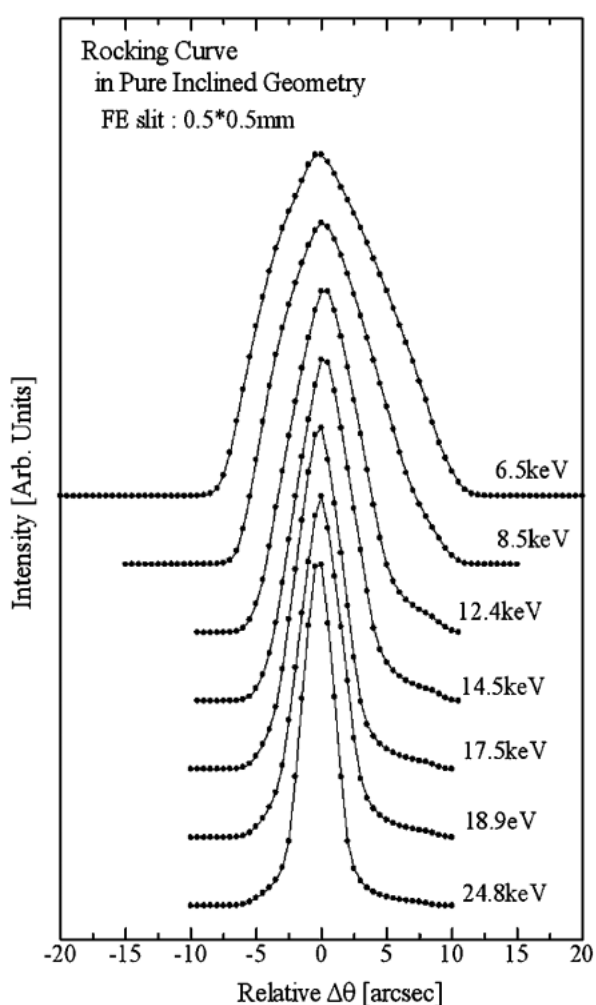


Fig. 2 Variation of rocking curve of Si(111) double crystal monochromator at BL41XU. Energy range is from 6.5 to 24.8 keV and ring current is 100 mA.

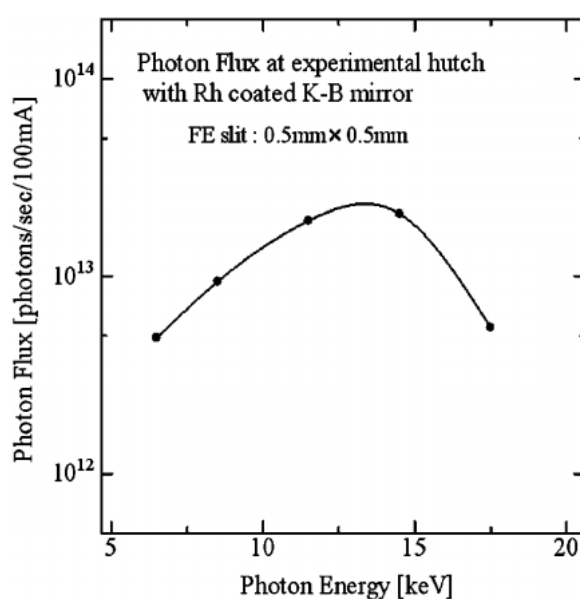


Fig. 3 Total photon flux at the experimental hutch of BL41XU.

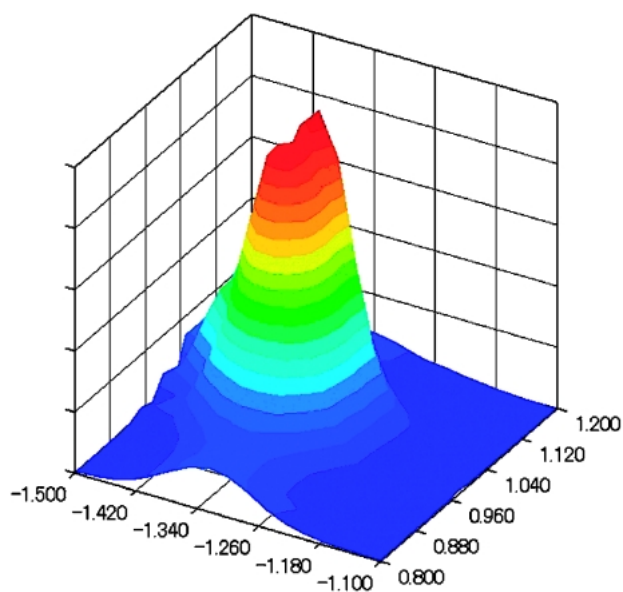


Fig. 4 Beam profile at the sample position of BL41XU.





Fig. 5 Equipments in the experimental hutch of BL41XU.

をビームサイズ整形スリット，下流側を寄生散乱防止スリットとして用いている。BL41XUでは多くの場合，このスリットで $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ に整形したX線ビームを実験に用いている。現状では最小で $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$ までしか対応していないが，将来的には集光用ミラーの最適化などにより $25\ \mu\text{m} \times 25\ \mu\text{m}$ 以下の微細ビームをサポートする予定である。この微細なX線ビームによって，微小結晶からの回折写真測定でS/N比の大幅な向上が期待できる。

X線検出器には，イメージングプレート検出器にリガク社製R-Axis V<sup>14)</sup>が，X線CCD検出器にmar research社製marCCD165を用意している。また2004年9月からはX線CCD検出器としてADSC社製Quantum315が利用可能になる。このQuantum315とR-Axis Vの2台は，現在市販されているそれぞれのタイプの検出器としては最高クラスの検出面積（Quantum315:  $315\ \text{mm} \times 315\ \text{mm}$ ，R-Axis5:  $400\ \text{mm} \times 400\ \text{mm}$ ）と，高速読み取り系（Quantum315: 1.2秒，R-Axis V: 50秒）を持っている。

$300\ \text{\AA}$ 程度の格子定数の結晶や $2\ \text{\AA}$ 程度の分解能での測定といった一般的な実験はほとんどQuantum315でカバー可能となる。また，より大きな格子定数を持つ超巨大分子複合体の結晶や，原子レベルでの構造決定に必要な $1\ \text{\AA}$ 分解能を超える超高分解能測定（Fig. 6<sup>15)</sup>）には，より大きな検出面積と高いダイナミックレンジを備えたR-Axis Vを用いることであらゆるユーザーニーズを満たすことが可能である。

## 4. 高輝度放射光による放射線損傷

### 4.1 タンパク質結晶構造解析での放射線損傷とは

1990年頃からタンパク質結晶構造解析への第2世代放射光施設の利用が一般化するにつれて，放射光の大強度X線による放射線損傷<sup>16)</sup>が深刻な問題として取り上げられた。そこで，放射光による回折データ収集時の放射線損傷対策として， $100\ \text{K}$ という極低温での窒素ガス吹き付け冷却による回折実験法<sup>17)</sup>が開発され，放射光ビームライ

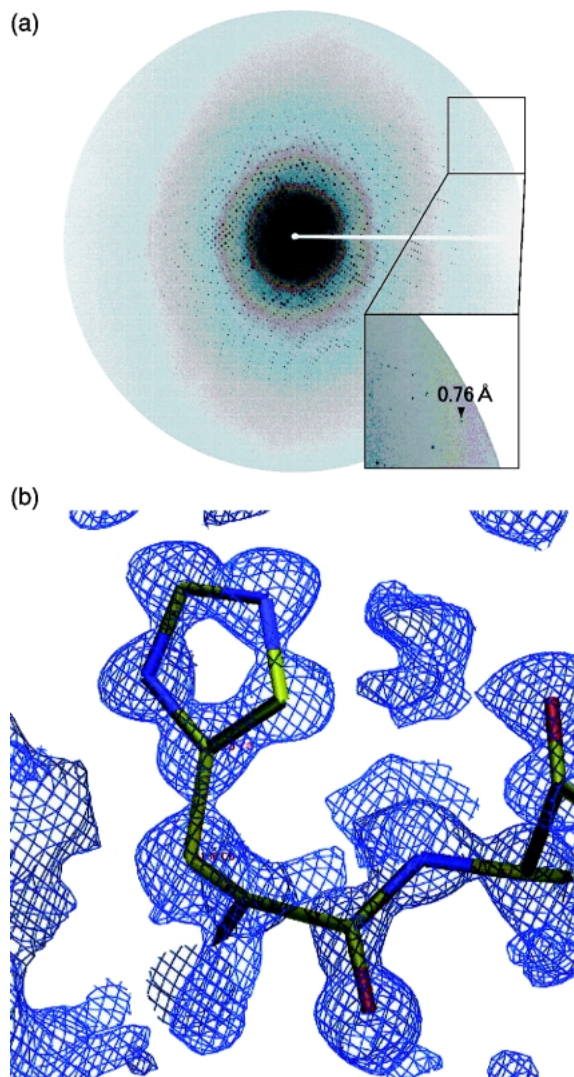


Fig. 6 High resolution diffraction experiment at BL41XU. (a) Diffraction image of CCD-detector. (b)  $0.85\ \text{\AA}$  resolution electron density map calculated with the high resolution diffraction data<sup>15)</sup>.

ンでの放射線損傷は克服されたように見られていた。しかしながら，1990年代後半から世界的に第3世代放射光施設が運転され，アンジュレータを光源とするBL41XUのような超高輝度ビームラインによるタンパク質結晶構造解析が開始されると，再び放射線損傷<sup>18)</sup>が大きな問題としてクローズアップされている。

第3世代放射光施設のアンジュレータビームラインのような高輝度放射光によるサンプル結晶の放射線損傷の原因は，光吸収による温度上昇と放射線との相互作用による化学的損傷に大別できる。ただし，前者の放射光吸収によるサンプルの温度上昇については， $10^{14}\ \text{Photons}/\text{mm}^2/\text{sec}$ のような高輝度放射光下においてさえ，小さな結晶サンプル（ $100\ \mu\text{m}$ 以下）を実験に用いて $100\ \text{K}$ の窒素ガス吹き付け低温装置のガスフローと露光時間に充分注意しておけば， $10\ \text{K}$ 程度の温度上昇に抑えることが可能である<sup>19)</sup>。このように，実験条件に十分な注意を払うことに

より温度上昇による放射線損傷は克服できる。

しかしながら、放射線とサンプルの相互作用による化学的損傷は放射光をプローブとして構造解析を進める限り、原理的に避けることが出来ない。放射線による化学的損傷は2つのステップによるものと考えられている。まず、一段階目では、放射線とサンプル原子との直接相互作用により、光電効果やコンプトン効果などによってエネルギーの吸収がおこる。この結果、入射した放射線が直接サンプル内の化学結合を切断して、サンプル分子自身に損傷を負わせる。二段階目の損傷として、一段階目の相互作用で生じた光電子やフリーラジカルによる損傷が考えられる。また、サンプル結晶中の溶液が放射線と相互作用した場合にも、フリーラジカルが発生する。タンパク質結晶の場合、このようなフリーラジカルは結晶中に広がり、さらなる化学変化によって分子自身の構造変化<sup>20)</sup>や結晶格子を作る分子間の相互作用を破壊して、結晶格子自身をも変化させる。

タンパク質結晶からの回折データにおいては、放射線損傷によって、回折強度の減少、結晶のモザイク性・温度因子・格子体積の増加による回折分解能の劣化などが引き起こされる。また、放射線損傷によるタンパク質分子内の化学変化や結晶格子の変化は、結晶の同型性を失わせ、回折データに系統誤差をもたらす。この放射線損傷を逆手にとって、損傷前のデータと損傷後のデータを使い位相を決定する方法<sup>21)</sup> (RIP: Radiation Damage-Induced Phasing) も近年考案されているとはいえ、結果としてMAD法やSAD法での位相決定の障害となるのが現実である。

#### 4.2 放射線損傷の実際

タンパク質結晶の回折実験においては、放射線損傷による影響を最低限に抑える為の単位面積当たりの最大放射線量はHenderson Limit<sup>22)</sup> ( $2 \times 10^7$  Gy)として報告されており、高輝度放射光による実験ではこの限界を越えないようなデータ収集を心がける必要がある。現在では、Hen-

derson Limitに達するまでの露光時間を、波長、ビームサイズ、フラックス、アミノ酸残基数、重原子数、格子長、結晶のサイズを入力することで計算するプログラムRaddose<sup>23)</sup>が開発されている。SPring-8のタンパク質結晶構造解析ビームラインにおいて、最も高い輝度 ( $10^{14}$  Photons/mm<sup>2</sup>/秒以上)を誇るBL41XUでは、一般的なサンプル結晶を仮定した場合、Henderson Limitに達するまでの照射時間は高々200~300秒である。また、偏向電磁石ビームラインの場合では、30000秒程度と見積もれる。

そこで、SPring-8の偏向電磁石を光源とする理研構造ゲノムビームライン (BL26B1)において、放射線損傷による影響を調べるためにSweet Tasting Protein (Thaumatin)を用いた実験を行った。データ収集は一枚あたりの露光時間を4秒とし、180枚のデータ収集と一時間連続でのX線照射を組み合わせる1セットとした。このセットを9回繰り返して、合計39600秒のX線を照射しながら系統的にデータセットを集め、それぞれについて解析結果を比較した。回折強度データ処理は、格子体積の変化を正確に見積もるためにカメラ長固定の条件で全データセットを処理した。Fig. 7に1.65 Å分解能での回折強度の統計精度をあらわす $R_{\text{merge}}$ と回折強度のシグナルノイズ比を示す $I/\sigma$ の変化および格子定数の変化を示したが、統計精度の悪化、回折強度の減少や格子体積の増大が観測されている。また、タンパク質内部でアミノ酸の構造変化を調べるために、1セット目と9セット目のデータを用いて精密化した構造について、各アミノ酸残基の温度因子の変化を調べた。そのアミノ酸毎の平均温度因子変化を見ると、システインや酸性側鎖アミノ酸に大きな温度因子変化が観測された (Fig. 8)。Asp147のカルボキシル基は温度因子が3倍程度上昇しており、ジスルフィド結合には切断された電子密度も観測されている (Fig. 9)。

この様に、高輝度放射光による回折実験ではもはや放射線損傷を避けて通ることができない。そこで、少しでも放

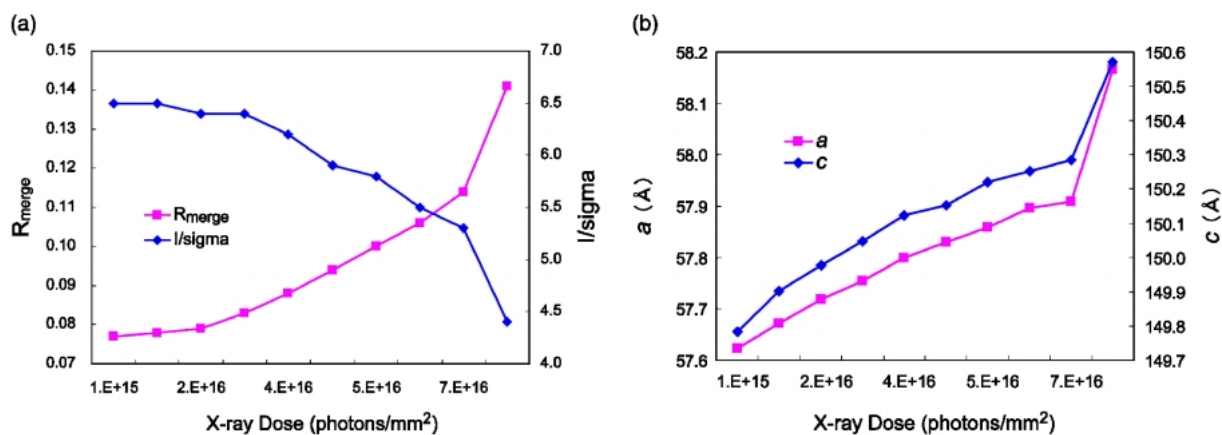


Fig. 7 Radiation damage measurement of Sweet Tasting Protein (Thaumatin) crystal at BL26B1. Nine datasets of 180 oscillation images at 4-second exposure were collected. The sample was continuously exposed for 60 minutes after each dataset measurement. (a) Change in statistic values according to the radiation dose. (b) Change in unit cell parameters.



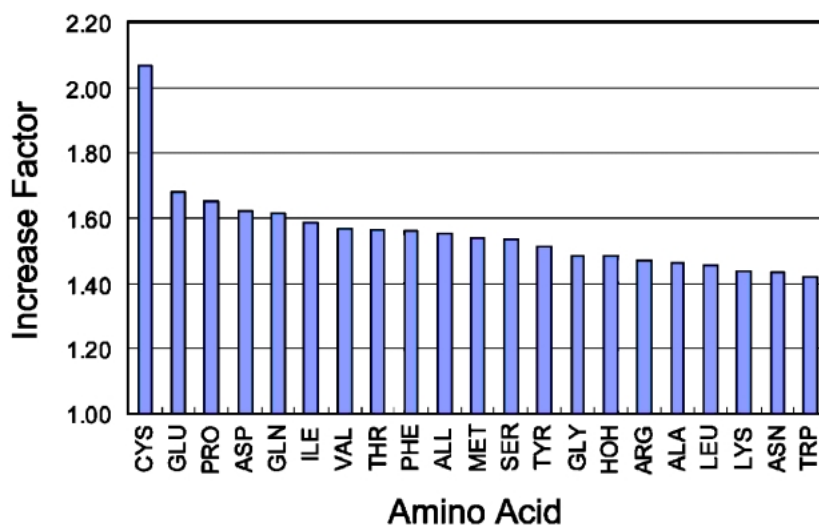


Fig. 8 Increasing ratio of averaged temperature factor of amino acids in the Sweet Tasting Protein (Thaumatococcus) crystal. The comparison between structure refinements based on the initial and final datasets.

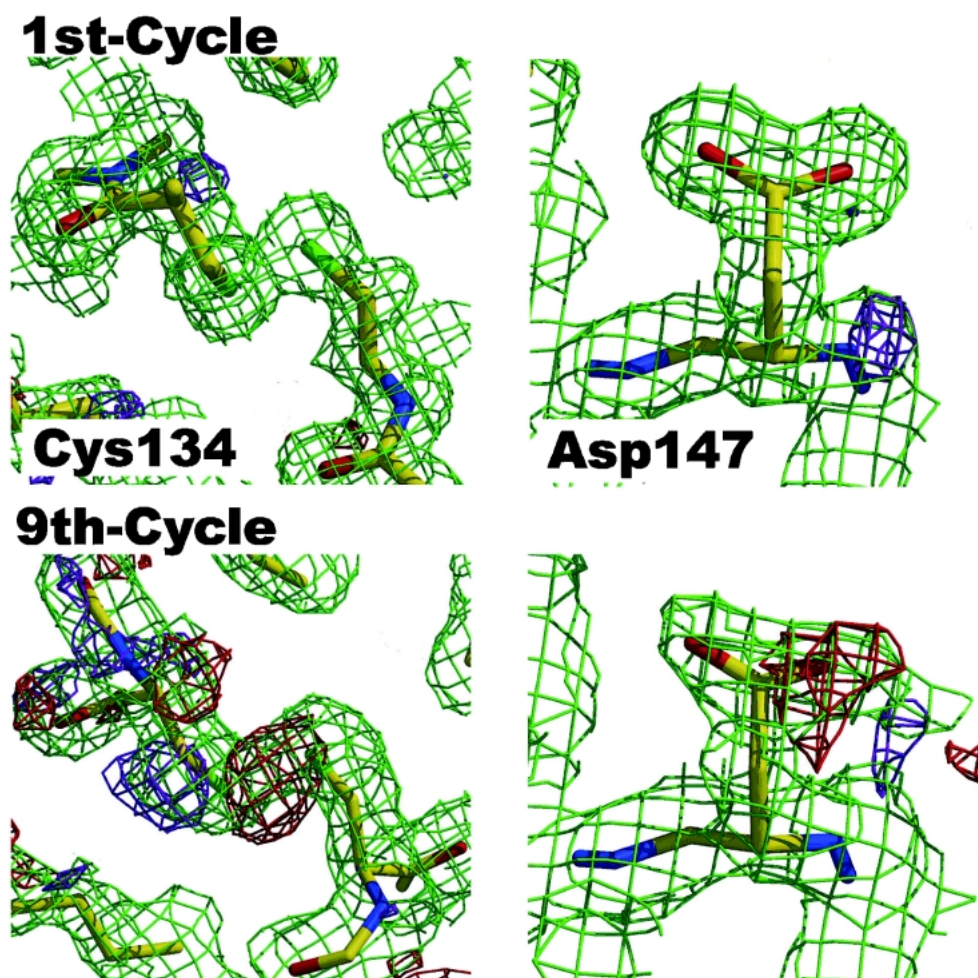


Fig. 9 Electron density map around Cys134 and Asp147 calculated with 1st and 9th datasets. Green: 2fo-fc map at  $1.0\sigma$  level. blue: fo-fc map at  $+3\sigma$  level. Red: fo-fc map at  $-3\sigma$  level.

放射線損傷を低減するために、2次的に生成するフリーラジカルを捕捉しタンパク質内の損傷を抑える方法として、結晶凍結時に加えるクライオプロテクト剤（凍結防止剤）にラジカルスカベンジャーであるアスコルビン酸を用いた実験が報告されている。高濃度アスコルビン酸の添加により、タンパク質分子中のジスルフィド結合の切断を抑えることが出来たが、添加により結晶母液のpHが大きく変化してしまうため、すべての結晶に用いることは出来ない。その他にも多くのラジカルスカベンジャーが放射線損傷低減剤の候補として考えられるが、今後の研究に期待する状況である。

また、放射線損傷深刻化の原因として、アンジュレータなど放射光高輝度化技術の進展に比べて、検出器高速化など実験ステーションでの測定技術の進歩が追いついていない状況であり、さらなる技術開発が必要である。

## 5. おわりに

SPring-8のタンパク質結晶構造解析用ビームラインでは、アンジュレータビームラインを中心として、第三世代放射光の高輝度X線を生かした微小結晶や超格子結晶にも解析対象の拡大が進んでいる。また、全てのビームラインにおいてMAD法による回折強度測定が一般化され、構造決定の簡便化・迅速化が進んでいる。

タンパク質結晶構造解析における、これら放射光ビームラインの高度化は、今まで不可能であった難解サンプルの解析可能性の助けになるとともに、多くのビームライン利用者の負担を軽減するものであり、タンパク質結晶構造解析の一層の拡大と発展が期待される。しかしながら、高輝度放射光の性能を最大限活用するには、原理的に避けられない放射線損傷を如何にコントロールしながら実験を進めていくかが大変重要である。

## 謝辞

本稿に記述したBL41XUの改造、調整および運転は、JASRIの清水伸隆氏、長谷川和也氏、理研の二澤宏司氏をはじめ多くのSPring-8スタッフの協力により支えられています。特にBL41XUのピンポスト結晶や集光ミラー系の更新については、JASRIの山崎裕史氏、清水康宏氏、後藤俊治氏をはじめJASRIビームライン技術部門の皆様にご協力頂きました。また、BL41XUでの超高分解能回折実験は、京都大学薬学部の清水哲也氏、中津亨氏、加藤博章氏との共同研究により進めているものであり、デー

タの掲載許可を感謝いたします。理研構造ゲノムビームラインの調整および運転は理研の二澤宏司氏、スプリングエイトサービスの福本祐史氏、村上博則氏、藤尾美紀氏の協力により進められています。ここに述べた多くの方々をはじめSPring-8のスタッフおよびビームラインユーザーの皆様へ深く感謝いたします。

ここに述べたBL41XUの光学系の改造は文部科学省「タンパク3000プロジェクト個別解析プログラム」から、理研構造ゲノムビームライン開発の一部は文部科学省「タンパク3000プロジェクト網羅的解析プログラム」から、支援を受けて実施したものである。

## 参考文献

- 1) R. F. Service: *Science* **298**, 948 (2002).
- 2) <http://www.mext-life.jp/protein/>
- 3) J. R. Helliwell: *Macromolecular Crystallography with Synchrotron Radiation*, Cambridge University Press, Cambridge, (1992).
- 4) W. A. Hendrickson and C. M. Ogata: *Methods in Enzymology* **276**, Academic Press Inc., NY, p494-523 (1997)
- 5) H. Kamitsubo: *J. Synchrotron Rad.* **5**, 162-167 (1998).
- 6) T. Ueki and M. Yamamoto: *Structure* **7**, R183-R187 (1999).
- 7) M. Kawamoto, et al.: *Nucl. Instrum. Methods A* **467-468**, 1375-1379 (2001).
- 8) <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/rcsf/supracryst/BL44XU/beamline.html>
- 9) M. Yamamoto, T. Kumasaka, T. Fujisawa and T. Ueki: *J. Synchrotron Rad.* **5**, 414-416 (1998).
- 10) H. Kitamura: *J. Synchrotron Rad.* **7**, 121-130 (2000).
- 11) T. Uruga, et al.: *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 2254-2256 (1995).
- 12) 上野 剛, 山本雅貴: SPring-8 利用者情報 Vol. 9 No. 2, 102-108 (2004).
- 13) 西島和三, 石川哲也: SPring-8 利用者情報 Vol. 6 No. 3, 207-206 (2001).
- 14) M. Yamamoto, et al.: *Nucl. Instrum. Methods A* **467-468**, 1160-1162 (2001).
- 15) T. Shimizu, T. Nakatsu, K. Miyairi, T. Okuno and T. H. Kato: *Biochemistry* **41**, 6651-6659 (2002).
- 16) C. Nave: *Rad. Phys. Chem.* **45**, 483-490 (1995).
- 17) T. Y. Teng: *J. Appl. Cryst.* **23**, 387-391 (1990).
- 18) R. B. G. Ravelli and S. M. McSweeney: *Structure* **8**, 315-328, (2000).
- 19) T. M. Kuzay, M. Kazmierczak and B. J. Hsieh: *Acta Cryst. D* **57**, 69-81, (2001).
- 20) W. P. Burmeister: *Acta Cryst. D* **56**, 328-341 (2000).
- 21) R. B. G. Ravelli, et al.: *Structure* **11**, 217-224, (2003).
- 22) R. Henderson: *Proc. R. Soc. Lond. B Bio. Sci.* **248**, 6-8, (1990).
- 23) J. W. Murray, E. F. Garman and R. B. G. Ravelli: *J. Appl. Cryst.* **37**, 513-522 (2004).

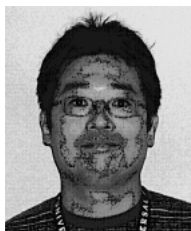
## ● 著者紹介 ●

**河本正秀**

財団法人 高輝度光科学研究センター  
利用研究促進部門Ⅱ 構造生物グループ  
E-mail: kawamoto@spring8.or.jp  
専門：タンパク X 線結晶構造解析

**【略歴】**

1996年大阪大学大学院理学部博士課程（後期）生化学専攻修了，1996年理化学研究所基礎科学特別研究員，1998年財団法人高輝度光科学研究センター研究員，現在に至る。

**上野 剛**

独立行政法人 理化学研究所播磨研究所  
石川 X 線干渉光学研究室  
E-mail: ueno@spring8.or.jp

専門：X 線結晶構造解析

**【略歴】**

1994年東京大学大学院理学系研究科物理学専攻修士課程終了，1994年㈱リガク入社，2001年理化学研究所播磨研究所へ出向，現在に至る。

**酒井久伸**

財団法人 高輝度光科学研究センター  
利用研究促進部門Ⅱ 構造生物グループ  
E-mail: saki@spring8.or.jp

専門：計算機科学

**【略歴】**

2000年京都大学大学院理学研究科博士前記過程修了，2000年財団法人高輝度光科学研究センター研究員，現在に至る。

**山本雅貴**

独立行政法人 理化学研究所播磨研究所  
研究技術開発室

（兼）財団法人 高輝度光科学研究センター  
利用研究促進部門Ⅱ 構造生物グループ

E-mail: yamamoto@postman.riken.go.jp

専門：タンパク X 線結晶構造解析

**【略歴】**

1991年大阪大学大学院理学部博士課程（後期）修了，1991年理化学研究所研究員，1997年勲高輝度光科学研究センター副主管研究員兼務，2002年勲高輝度光科学研究センター利用研究促進部門Ⅱ構造生物グループリーダー，2003年理化学研究所播磨研究所石川 X 線干渉光学研究室副主任研究員，2004年10月より理化学研究所播磨研究所研究技術開発室室長，現在に至る。

**井田 孝**

所属，北里大学理学部生物科学科  
E-mail: idakoh@sci.kitasato-u.ac.jp

専門：構造生物学

**【略歴】**

2001年理化学研究所ジュニアリサーチアソシエイト，2004年横浜市立大学総合理学研究科博士課程修了，2004年北里大学理学部生物科学科助手，現在に至る。

## High-brilliant synchrotron radiation for the protein crystallography at SPring-8

**Masahide KAWAMOTO**  
**Hisanobu SAKAI**  
**Koh IDA**  
**Go UENO**  
**Masaki YAMAMOTO**

JASRI/SPring-8 Kouto, Mikaduki, Sayo, Hyogo 679-5198, JAPAN  
JASRI/SPring-8 Kouto, Mikaduki, Sayo, Hyogo 679-5198, JAPAN  
Kitasato University Kitasato, Sagamihara, Kanagawa 228-8555, JAPAN  
RIKEN/SPring-8 Kouto, Mikaduki, Sayo, Hyogo 679-5148, JAPAN  
RIKEN/SPring-8 Kouto, Mikaduki, Sayo, Hyogo 679-5148, JAPAN  
JASRI/SPring-8 Kouto, Mikaduki, Sayo, Hyogo 679-5198, JAPAN

**Abstract** Protein crystallography has dramatically progressed utilizing the high-brilliant and variable-wavelength X-ray source of synchrotron radiation facilities. At the third-generation synchrotron facilities such as SPring-8, protein crystallography beamlines with the insertion devices have been developed and improved to achieve the data collection for smaller sample crystals and more rapid data acquisition, taking advantage of the bright light source. On the other hand, the radiation damage on sample crystals because of the brilliant incident beam has become un-ignorable, and various efforts to improve the experimental procedures have been dedicated.