

■会議報告

The 12th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation (BSR 2016) 報告

奥村英夫 ((公財)高輝度光科学研究センター)

今回で12回目となった International Conference on Biology and Synchrotron Radiation (BSR 2016) が、2016年8月21日～24日の期間で、アメリカ合衆国カリフォルニア州メンローパークで開催された。会場となった SLAC 国立加速器研究所は、サンフランシスコからつながるカルトレイン(鉄道)のパロアルト駅から南へ下り、スタンフォード大学キャンパスを経た先に位置する。広大なスタンフォード大学キャンパス内で運行される無料のマルガリータバスがパロアルト駅からも出ており、SLAC へはこのバスを利用して行くこともできるが、駅からの直行便はなく、SLAC 敷地内のゲストハウスを利用することが推奨のようである。

全セッションは SLAC 内の施設である Science & User Support Building の Panofsky Auditorium で行われた。全9テーマを企画された各オーラルセッションは招待講演と一般講演で構成され、放射光や X-ray free electron laser (XFEL) を用いた Biology 研究、また X 線と、他の測定・解析技術を複合的に利用した応用研究について講演が行われた。本稿では、これらの中からいくつかの口頭発表について報告を行う。

まずオープニングトークでは、スタンフォード大教授である若槻壯一氏より、BSR の歴史を中心とした講演がなされた。引き続き、RCSB PDB Director の Stephen Burley 氏、LCLS Directorate の Michael Dunne 氏、SSRL Director の Kelly Gaffney 氏より挨拶があった。

セッション1では Membrane Proteins をテーマとして、膜タンパク質の構造研究について6件の講演が行われた。岡山大学の沈建仁氏からは、Photosystem II の構造解析について、SPRING-8 で測定された 1.9 \AA の構造、および SACLA で比較的大きな結晶で利用される fixed-target crystallography 法を用い、短パルス X 線の利用により放射線損傷を受ける前のデータを収集する無損傷測定で得られた 1.95 \AA の構造が紹介された。さらに、活性中心に存在する Mn クラスタと呼ばれる構造の、反応中間状態を明らかにするために、ポンプ・プローブ法を利用し、時分割 SFX (serial femtosecond crystallography) によって得られた構造について、電子伝達経路などの詳細説明がなされた。



写真1 会場の SLAC/Science & User Support Building

セッション2の Macromolecular Complexes では、タンパク質複合体について、6つの講演がなされた。東京大学の濡木理氏からは、ゲノム編集ツールとして注目されている Cas9 タンパク質および Cpf1 タンパク質の構造解析とその機能について報告がなされた。先に報告された Cas9 では2本のガイド RNA と結合し、ガイド RNA の一部と相補的な2本鎖 DNA を見つけ出して狙った場所を切断するが、Cpf1 では1本鎖のガイド RNA と結合し、切断された末端が Cas9 の時のそれとは異なる切り口となることを、その構造解析の結果から説明がなされた。

セッション3の Hybrid Methods では、X線/ニュートロン結晶学、電子顕微鏡単粒子解析、ラマン/吸収分光など複数の手法を複合的に用いることで構造と機能をより詳細に研究する手法に主眼が置かれ、7つの講演がなされた。University of Essex の Michael A. Hough 氏より、X線結晶構造解析と単結晶分光測定を組み合わせた測定法について紹介がなされた。タンパク質の酸化還元状態や基質の結合状態を正確に見積もるためには X 線回折測定中に分光測定による状態評価が有効である。本発表では X 線構造解析と分光測定により、銅結合タンパク質において、X線照射により銅の還元と銅近傍の水分子の位置が連続的に変化する様子を、動画として再構成させた解析例の紹介がなされた。



写真2 参加者集合写真

セッション4のBioinformatics and Computingでは、解析計算法やバイオインフォマティクスによる classification について、6つの講演がなされた。University College LondonのChristine Orengo氏からは、CATH FunFamsと呼ばれる、新しいタンパク質構造の分類法について紹介がなされた。アミノ酸配列・構造などにクラスタリングを適用して、分類を行われるのがCATHデータベースであるが、新しい手法では、このCATHの各スーパーファミリーに、隠れマルコフモデルと呼ばれる解析手法を適用し、タンパク質の機能をベースとするクラスタリングを行うということであった。これにより、10,000種の類似構造・機能をもつ分類(CATH FunFams)が同定され、例えばCATH FunFamsで見いだされる保存されたアミノ酸の側鎖により、同じクラスターの構造で活性部位が特定できるとのことであった。

セッション5のScience with Upgraded SRSでは、放射光施設のアップグレードについて5つの講演がなされた。このうち、Northwestern UniversityのGayle Woloschak氏からは、APSにおけるX線蛍光イメージング技術向上の試みについて報告がなされた。Bionanoprobeと呼ばれる装置を開発、導入することにより、ナノ粒子で修飾した凍結生物試料(細胞、オルガネラ、細胞内外の分子)に対し、クライオ環境でのフォーカスしたX線による走査が可能となり、自然状態に近い試料内での粒子の分布をモニタリングする技術が向上したとのことであった。その研究例として、がん細胞の一種であるヒラ細胞に対し、Ti, Fe, Znを導入し、異なるフォーカスサイズのビームを用いることで細胞の形状から、細胞内のナノ粒子の局在までスケールをまたがって観察される様子が示された。

セッション7のX-ray/IR Imaging/SR-CDIでは6つの講演がなされた。このうち、Paul Scherrer InstituteのAndreas Menzel氏より、X線タイコグラフィを利用したX線イメージング研究の紹介がなされた。X線タイコグラフィはレンズを用いないイメージング技術であるコヒーレントX線回折イメージング(Coherent X-ray Diffraction Imaging: CXDI)の1つとして分類され、走査型

CXDIとも呼ばれている。実施例として凍結した酵母細胞の3D密度マップが150 nm分解能で示され、脂質、でんぷん質、細胞質などが可視化されていた。3D再構成はビームタイム中にすぐさま可能であり、測定条件にフィードバックをかけることができるとのことである。また、放射線損傷の激しい試料に対応するため、OMNYと名付けられたクライオ環境で測定するための装置の開発が紹介され、マウス脳のクライオタイコグラフィによるトモグラフィ像の再構成の成功例が紹介された。

セッション8のDynamicsでは、反応のメカニズムや時間依存の構造変化などに着目した6つの演題が講演された。このうち、University of WisconsinのMarius Schmidt氏より、LCLSを利用した、Photoactive Yellow Protein (PYP)の時分割SFXについて報告がなされた。Gas Dynamic Virtual Nozzleと呼ばれる装置で微結晶をインジェクションし、140フェムト秒のパルスレーザーで励起、40フェムト秒のX線をプローブとしてデータを収集した結果、暗状態から励起状態(250フェムト秒)、PYPの発色団であるクマル酸のトランス体からシス体への異性化(800フェムト秒)、その後の熱的変化過程(3~100ピコ秒)、化学的変化過程(1.7ナノ秒~100マイクロ秒)、そして元の暗状態へと反応の全過程を観測することに成功したことが説明された。本研究成果からさらに発展し、光感受性タンパク質のみならず、酵素の触媒反応への応用が期待される。

セッション9の7 Years of XFEL in Structural Biologyでは、XFELが利用開始されてからの構造生物学の発展に着目し、7つの講演がなされた。

Max Planck Institute for Medical ResearchのIlme Schlichting氏からは、SFXにおける位相計算の問題について紹介がなされた。ランダムな方位の微結晶に1回だけX線パルスを照射、破壊することを繰り返すSFXの手法では、回折強度データの完全性と精度を高めるために数多くの回折イメージを必要とする。位相決定のためには精度の高い回折強度データが要求されるが、計算手法の発展とともに、必要となる回折イメージの数は減少してきた。2014年にはガドリニウムを結合させたリゾチームの構造

解析での位相計算に60,000枚もの回折イメージを必要としていたが、2016年には7,000枚の回折イメージから位相決定することに成功している。一方、重原子導入を必要としないS-SAD法（タンパク質がもつ硫黄原子の異常分散を利用する単波長異常分散法）ではリゾチームで150,000枚の回折イメージを必要としており、現実的には低い異常分散シグナルが問題となっている。解決方法として、解析技術の向上に合わせ、XFELにて2波長データを同時に測

定できる dual color mode 運転が提案され、波長間の異常分散効果の差を位相計算に利用する多波長異常分散法（MAD法）を用いることで、少ない回折イメージで位相決定が可能とのことであった。

次回のBSRは3年後の2019年に、中国・上海にて、上海科技大学 iHuman Institute のオーガナイズで開催されるとのことである。