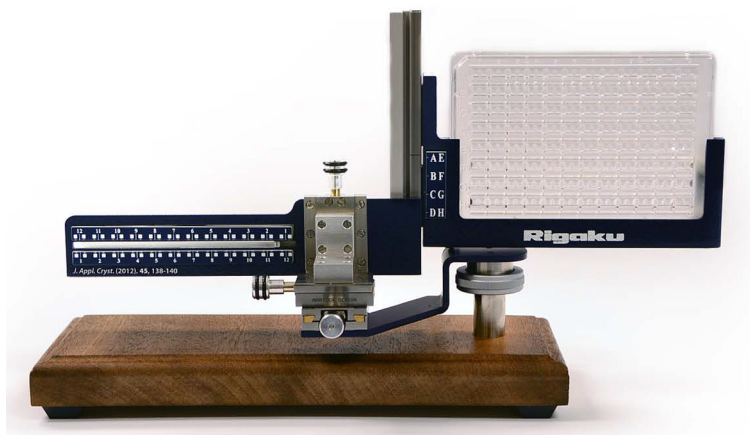


タンパク質結晶その場観察用プレートアダプター PlateMate



1. はじめに

PlateMateは、タンパク質結晶の迅速なスクリーニングを行うためのツールです。SBS形式の結晶化プレートを直接X線回折装置に取り付けて回折実験を行うことができるので、結晶化状態を乱すことなくタンパク質結晶を評価することができます。タンパク質結晶学では、回折実験に適した結晶を選別するために、しばしば多数の結晶をスクリーニングしなければならないことがあります。特に室温での評価が必須な際には、キャピラリーに封入する必要があるため、さらに多大な労力がかかります。PlateMateはAstraZeneca⁽¹⁾の結晶学者により開発されたツールをリガクが商品化したものですが、結晶を結晶化プレートから取り出す必要がないため、スクリーニング作業の大幅な省力化が可能となります。タンパク質結晶なのか低分子結晶なのか、分解能の上限、結晶性などの情報は、実際にX線を照射してはじめて取得することができます。PlateMateを用いれば、結晶化状態を乱すことなく、手軽にスクリーニング作業を実施することが可能です。結晶性の良いもののみを凍結すればよいので、凍結作業も最小限に抑えることができます。

2. PlateMateの特徴

PlateMateは主に2つの部位で構成されています。プレートホルダーと台座部分です(図1)。結晶化プレートをプレートホルダーに固定し、これをあらかじめゴニオメータに取り付けておいた台座部分のルールに差し込みます。プレートホルダーには、測定する結晶化



図1. 台座 (左) とプレートホルダー (右)。

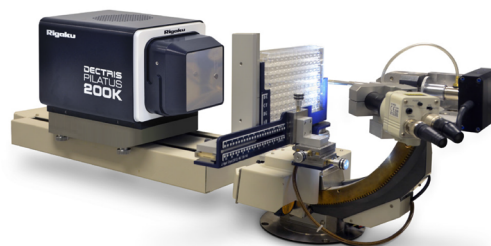


図2. PILATUS 200 K半導体検出器を搭載したAFC11に取り付けたPlateMate。

ウェルの位置を特定することができるよう、メモリが刻印されています。結晶化プレートの半分、A-D列のウェルが終了したらプレートを回転し、残り半分E-H列のウェルをチェックします。

実際の測定の際には、まず縦横のルールを使い、測定したいウェルの位置を大まかに合わせます。次に台座部分に取り付けられているマイクロメータで、測定したい結晶のセンタリングを行います(図1)。センタリングが完了したら、データ測定ソフトウェアによ

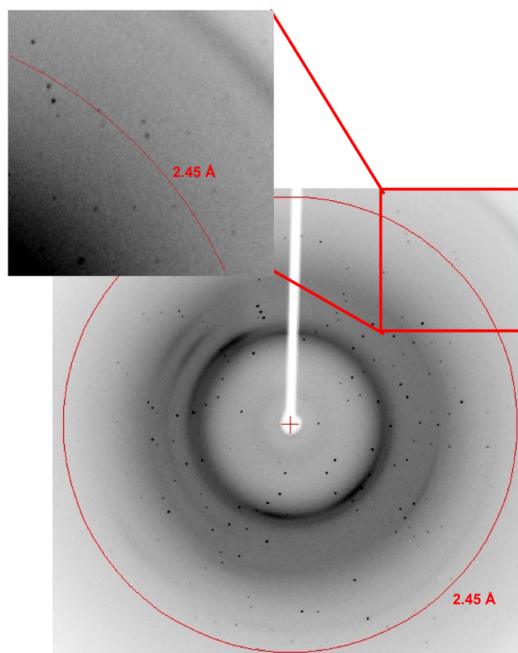


図3. リゾチーム結晶の回折イメージ。

りX線回折像を取得します。

PlateMateはこの他にも、結晶化プレートのまま結晶のスクリーニングを行うのに必要な、付属品や特徴を備えています。たとえばビームストップです。PlateMate用のビームストップは、PlateMateと干渉しないように設計されています。また台座の取り付け部分はIUCr規格に準拠していますので、そのまま既存のゴニオメータに取り付けることが可能です(図2)。加えて衝突を回避するためのソフトウェアモジュールも付属しており、すべてのリガク製ソフトウェア(CrystalClear, HKL-3000R, StructureStudioなど)と組み合わせることができます。PlateMateでの測定終了後、簡単なソフトウェア操作により、通常の測定モードに切り替えることができます。

3. 使用例

スクリーニングやデータ測定におけるPlateMateの威力を試すため、MiTeGen製結晶化プレート *In Situ-1* を用いてリゾチームを結晶化しました(*In Situ-1*は底面が薄いため、X線回折によるその場観察に最適です)。結晶が100 μm 程度の大きさになるまで成長したところで、MicroMax-007 HFをX線源とするAFC11+ Saturn 944HG CCDシステムにセットしました。120 μm 程度の大きさを持つ結晶について、振動角0.5°、露光

表1. リゾチームのデータ処理結果。

Space Group	P4 ₃ 2 ₁ 2
Unit cell	a=79.22 Å c=37.94 Å
Resolution	2.1 Å
Mosaicity	0.42°–0.43°
Total # reflections	18994
# unique reflections	7491
Rejected reflections	10, or 0.05%
Completeness	88.7% (64.1%)
Redundancy	2.9 (1.4)
$\langle I/\sigma(I) \rangle$	20.7 (4.8)
Linear R _{merge}	4.7% (14.3%)
χ^2	1.153 (0.882)

() 中の数字は最高分解能シェルの値

時間15秒、カメラ長60 mmにて測定を行ったところ、2.2 Å分解能程度の反射を観測することができました(図3)。得られた回折イメージについてHKL-3000R⁽²⁾を用いて指数付けを試みたところ、容易に格子を決定することができました。

次に40分のイメージデータを振動角0.5°、露光時間15秒にて室温で取得しました。隣接する結晶からの回折は観測されず、全測定領域を通じて単一の結晶からの回折点のみが観察されました。これは近接する結晶に、X線が照射されなかったことを示しています。得られたイメージをHKL-3000Rによって処理した結果を表1に示します。

リゾチームその他の結晶を用いた回折実験の結果から、結晶化プレートのままでのデータ測定が可能であることが分かります。

PlateMateは結晶化状態のままでのスクリーニングやデータ測定を可能にするツールであるのみならず、今お使いの装置の処理能力を、少ない費用で大幅に向上させることができるツールでもあります。

参考文献

- (1) D. Hargreaves: *J. Appl. Cryst.*, **45** (2012), 138–140.
- (2) W. Minor, M. Cymborowski, Z. Otwinowski and M. Chruszcz: *Acta. Cryst.*, **D62** (2006), 859–866.