

ハイスループット結晶-構造パイプラインの構築

**High-throughput crystallization-to-structure pipeline at RIKEN SPring-8 Center**

Michihiro Sugahara, Hitoshi Yamamoto, Katsumi Shimizu,

Yukuhiko Asada, Naoki Kunishima

菅原道泰, 山本等, 清水勝美, 淺田征彦, 国島直樹

(理化学研究所 播磨研究所 放射光科学総合研究センター

先端タンパク質結晶学研究グループ)

(Advanced Protein Crystallography Research Group,

RIKEN SPring-8 Center, Harima Institute)

e-mail: msuga@spring8.or.jp

タンパク質の原子レベルでの 3 次元構造を決定できる主な手法の一つとしてタンパク質結晶を用いた X 線構造解析がある。近年、構造ゲノムプロジェクトによってタンパク質構造解析パイプラインの構築は世界各国で進みつつある。理化学研究所 構造プロテオミクス研究推進本部 (RSGI; <http://www.rsgi.riken.go.jp/>) は日本での主な構造ゲノムプロジェクトの一つである。その中で、先端タンパク質結晶学研究グループ (APCR グループ) は SPring-8 の放射光を用いて、ハイスループット構造解析パイプラインを構築した。これまでに理化学研究所 放射光科学総合研究センターでは迅速なタンパク質の構造決定のためのシステムとして、自動結晶化・観察ロボ TERA [1], 放射光ビームライン用凍結結晶サンプルチェンジャー SPACE [2], 重原子検索プログラム HATODAS [3](<http://hatodas.harima.riken.jp/>), 汎用クライオプロテクタントと重原子置換用汎用クライオプロテクタント [4], 自動位相決定・モデル構築、およびモデルチェック機能を含む構造解析プログラム PERON を開発した。しかしながら、個々の要素技術開発から作られた構造解析のための装置やソフトウェアをどのような手順で構造解析パイプラインに流すかが構造解析における効率化の鍵である。

ここで、我々は APCR グループ・多量体タンパク質構造解析研究チームで構築したハイスループット結晶-構造パイプラインにおける、タンパク質ターゲットセレクション、結晶化、回折実験、位相決定、精密化、および Protein Data Bank (PDB) 登録までの手順と結果、さらに本パイプラインにおける現状の問題点について報告する。本パイプラインを用いた構造ゲノムプロジェクトのゴールはタンパク質構造-機能の評価のみだけでなく、タンパク質構造解析技術のさらなる向上を目指すものである。現在、結晶が析出しにくいタンパク質、結晶は析出しても分解能等の結晶の質が悪いタンパク質、位相決定が困難なタンパク質は数多く残っており、それらタンパク質に対応できる技術の開発は必要である。

[1] Sugahara, M. & Miyano, M. (2002). *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, **47**, 1026-1032.

[2] Ueno *et al.*, (2004). *J. Appl. Cryst.* **37**, 867-873.

[3] Sugahara *et al.*, (2005). *Acta Cryst.* **D61**, 1302-1305

[4] Sugahara, M. & Kunishima, N. (2006). *Acta Cryst.* **D62**, 520-526.