

PlateMate を使用した in situ 測定・解析例

はじめに

タンパク質の結晶化により得られた結晶がタンパク質の結晶なのか、解析に堪える十分な回折能を持つのかを評価するには、結晶化プレートから結晶を取り出し、実際にX線を照射しなければなりません。また、十分な回折が得られない場合には、凍結条件に問題があるのか、もともと結晶性が低いのかを評価するために、室温での測定が必要となります。室温での測定では結晶をキャピラリーに封入するなど、手間のかかる作業が必要です。PlateMateは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ることができるアダプターです(図1)。PlateMateを用いることにより、結晶化状態のままX線を照射し結晶の評価を行うことが可能となります。



図 1 PlateMate

測定・解析例

リゾチームを結晶化したIn situ測定用結晶化プレート(*In Situ-1, MiTeGen*)をPlateMateへ装着し、XtaLAB P200 MM007へ取り付けました。複数の結晶について結晶をチェックし、最も回折能の高い結晶について振動角 0.5° 、露光時間10秒、カメラ長90mmでデータ収集を行いました。得られたデータを用いて分子置換法による構造解析を行ったところ、 2\AA 分解能にて構造を決定することができました(表1、図2)。PlateMateは、結晶化プレートのみで結晶の質のチェックを実施できるだけでなく、状況によっては構造解析用データの収集も行うことができます。またPlateMateのゴニオメータへの取り付け部分は、IUCr規格に準拠していますので、既設のCCDやIP等ほとんどのX線回折装置に装着することができます。PlateMateの導入により大幅な省力化が可能となります。

表 1. リゾチームの測定および精密化結果

Data collection parameters				
Distance	$\Delta\omega$	Exp	# img	
90 mm	0.5°	10 sec	90	
Processing statistics				
Space Group	Resolution	R-merge	Compl.	I/sigI
$P4_32_12$	35.38-2.0 \AA (2.07 – 2.00 \AA)	1.5 % (4.7%)	67.5 % (54.8%)	40.6 (7.7)
Refinement statistics				
Resolution	R-factor	Free R-factor		
35.38-2.0 \AA	15.84 %	22.39 %		

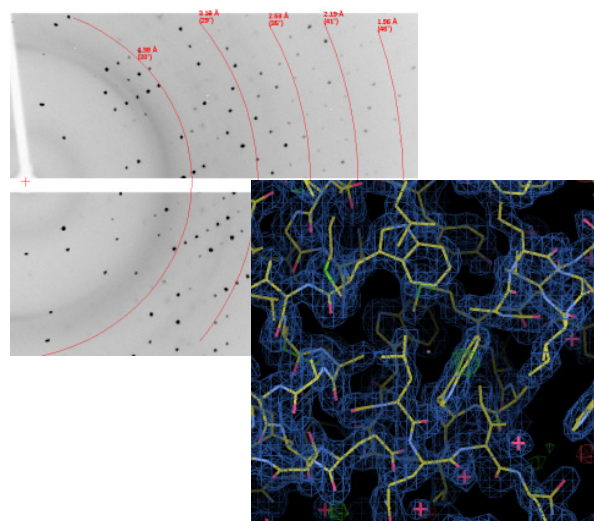


図 2 リゾチームの回折イメージおよび電子密度

推奨装置

- ▶ タンパク質結晶その場観察用プレートアダプター PlateMate
- ▶ ハイブリッドピクセル検出器搭載単結晶X線回折装置 XtaLAB P200
- ▶ イメージングプレートX線検出器 R-AXIS IV++
- ▶ 高速イメージングプレートX線検出器 R-AXIS VII
- ▶ 高輝度X線発生装置 MicroMax007HFM
- ▶ 超高輝度X線発生装置 FR-X