

# Photon FactoryにおけるBioSAXS実験

## [技術の概要]

### 生体高分子の溶液散乱実験 (BL-6A、10C、15A2)

溶液状態での低分解能性状・構造解析

- 構造状態(分子のサイズ、分子量、会合状態)推定・評価
- ab initioモデリングによる構造解析
- ドメイン配置の決定
- 結晶構造などと組み合わせた相関構造解析
- エキスパートのビームタイム利用
- 初心者向け講習会・テスト測定のカ開催

### サンプルチェンジャーによるハイスループット測定

試料分注機能を備えた自動測定システムを構築  
16 sample/hour (現状)、192 sampleを連続測定可能

### HPLC/MALSを組み合わせた高精度溶液試料解析システム

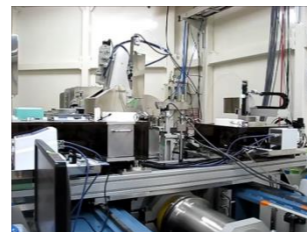
HPLC(SEC)による画分で連続的にSAXS測定を行う  
SEC-MALSによる絶対分子量決定と組み合わせ、従来より不安定、複雑な系での解析を可能にする。



BL-15A2



HPLC & MALS

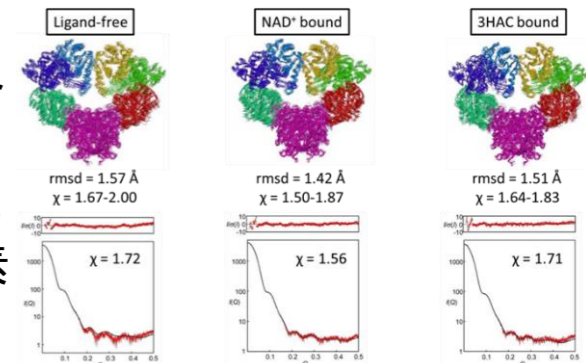


サンプルチェンジャー

## [技術の利用例]

### 相関構造解析

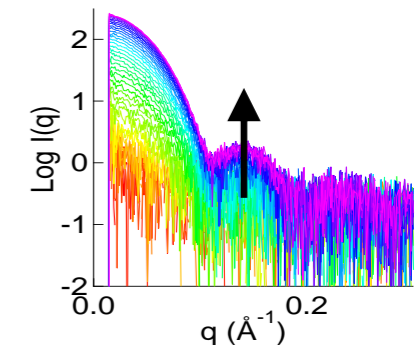
結晶構造解析とSAXSを組み合わせ、脂肪酸β酸化酵素複合体のリガンド結合状態の異なる四次構造モデルを構築し、酵素反応中の構造変化を可視化。



Tsuchiya & Shimizu *et al. Structure* (2006)

### SEC-SAXS

標準試料(Glucose isomerase)によるテストデータ。  
SECの溶出にしたがって散乱強度が増加していく。



## 連絡先

[所属] 高エネルギー加速器研究機構

[名前] 西條慎也、清水伸隆

[E-mail] shinya.saijo@kek.jp

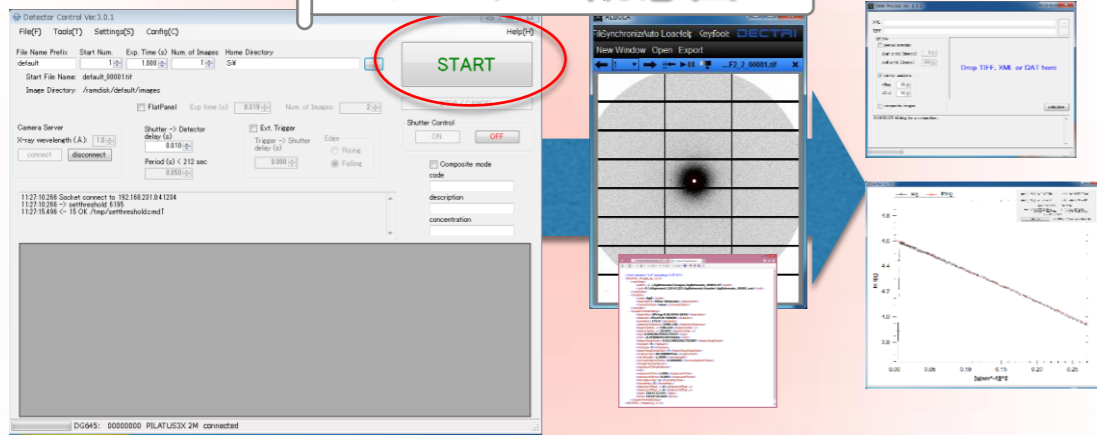
nobutaka.shimizu@kek.jp

# SPring-8タンパク質溶液散乱測定

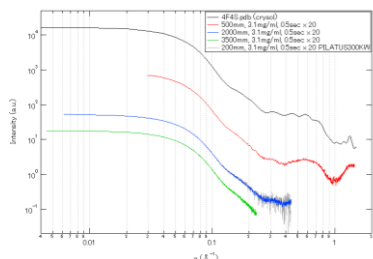
## [技術の概要]

- BL45XUの高輝度ビームを用いた小角散乱測定
- 測定からギニエ解析までの自動化システム
- 大型2次元検出器を用いた短時間、精密測定
- オンラインHPLCによる精製困難な試料の散乱測定
- ストップフロー装置などを用いた時分割測定

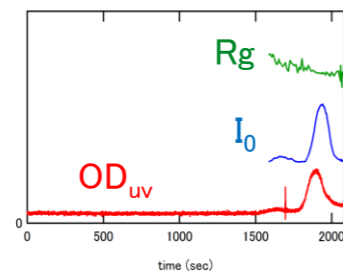
### システム概念図



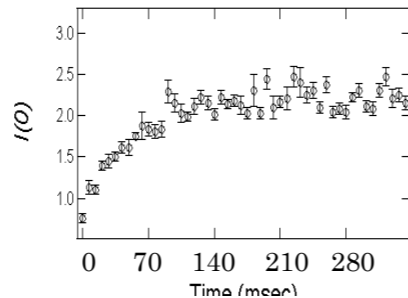
1クリックで測定からギニエ解析



ワイドqレンジでの測定  
( $0.005 < q (\text{Å}^{-1}) < 1.5$ )



ゲルろ過による  
OD<sub>UV</sub>、I<sub>0</sub>、Rg同時測定

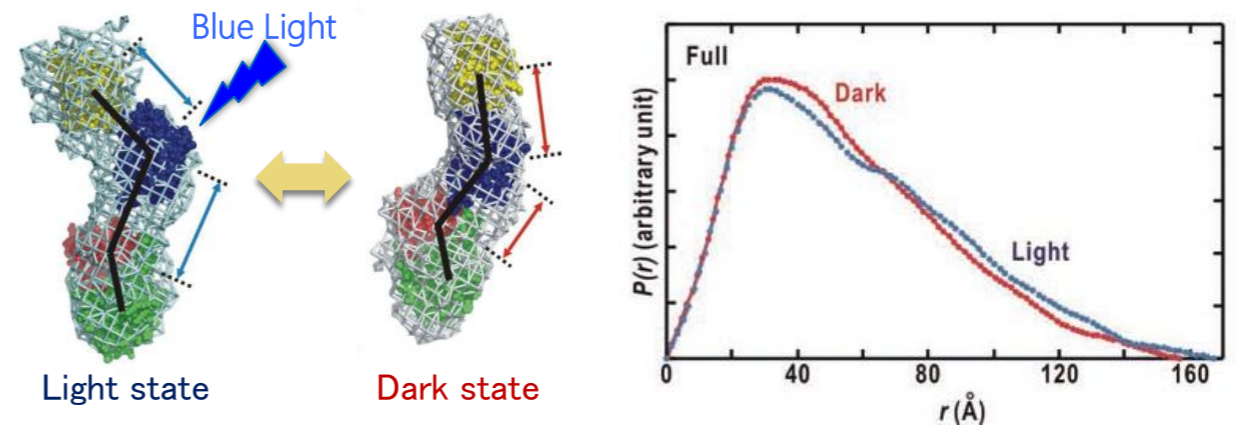


5ミリ秒からの時分割測定

## [技術の利用例]

高輝度放射光を用いた短時間精密測定により、溶液中での光反応タンパク質の構造変化を観察

光照射による溶液中でのPhototropinの可逆的な構造変化



参考文献

Okajima K. et al., J. Biol. Chem., **289**(1), (2014) 413–22

## 連絡先

[所属] 理化学研究所

[名前] 引間孝明

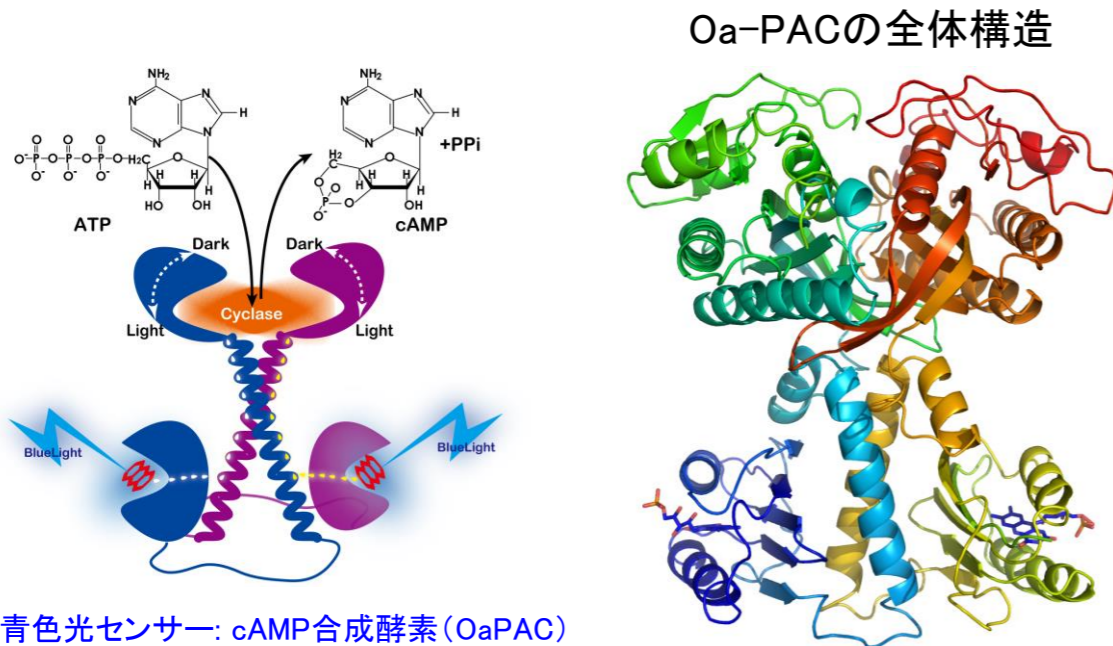
[E-mail] hikima@spring8.or.jp



# 構造解析用核内タンパク質等の生産と評価 [X線、SAXS]

## [技術の概要]

### 光活性化アデニル酸シクラーゼOa-PAC構造解析と Optogeneticsの応用研究



### SAXSによるタンパク質の性状評価

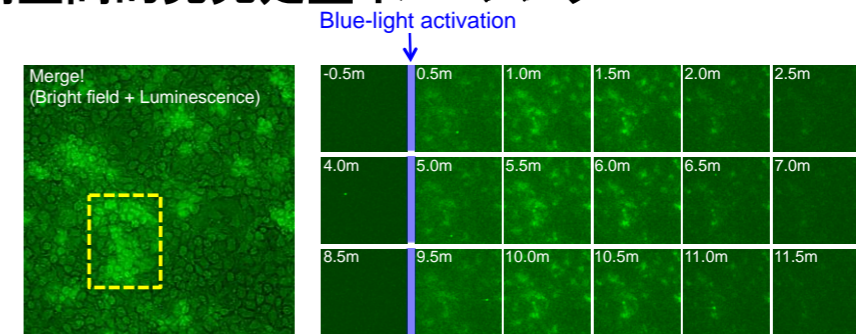
生産された試料溶液にX線を照射し、散乱されるX線の強度分布からタンパク質(複合体)の分散度(分子量)やフォールディングの有無、揺らぎの程度を見積もり、結晶化の可能性を定量的に判断する。また、X線解析されたタンパク質の原子構造から界面活性剤ミセル(膜タンパク質)や電子密度が観測されない揺らいだ領域の構造情報を求める。

### 設備名

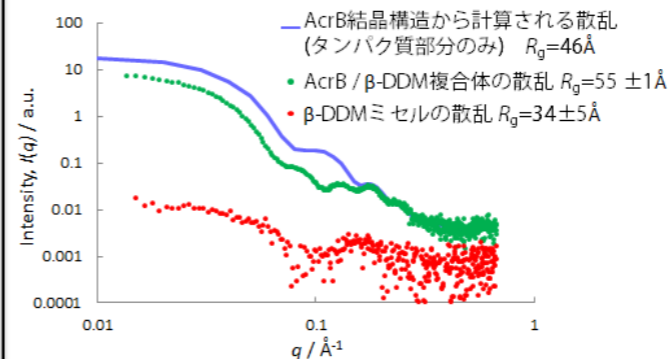
Bio-SAXS1000 (RIGAKU)

## [技術の利用例]

### Optogeneticsへ応用: 細胞内シグナル分子(cAMP)生成光制御と時間空間的発光定量イメージング



### 膜タンパク質-界面活性剤ミセル複合体への応用



膜タンパク質AcrB-DDM複合体の慣性半径は結晶構造のタンパク質部分のみから計算される半径より大きく、界面活性剤ミセルの寄与が観測できることが確認できた。また空のミセルに由来する散乱も確認できた。

## 連絡先

[所属] 横浜市立大学  
大学院生命医科学研究科

[名前] 佐藤 衛、朴 三用

[E-mail] msato@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp  
park@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp

# MD-SAXS法

## [技術の概要]

- マルチドメインタンパク質や天然変性タンパク質など、フレキシブルで結晶化しにくく、X線結晶構造解析が難しいタンパク質は数多く存在する。
- また、結晶構造と溶液構造が異なると想定される場合もある。
- そのような場合、低解像度ながら、溶液構造情報をX線小角散乱(SAXS)実験で得ることができる。
- そこで、バイオインフォマティクス技術を使ってモデリングした立体構造に対し、分子動力学(MD)シミュレーションとSAXS実験を連携させたMD-SAXS法を適用することにより、SAXS実験結果と一致した溶液構造モデルを得ることができる。

## [技術の利用例]

- 低分子結合などによって構造変化すると想定されるタンパク質があるが、片方の状態の構造しか分かっていない。
- 一方、SAXS実験にて、溶液構造が大きく異なることが示された。
- その場合、MD-SAXS法を用いることで、物理化学的に無理がなく、SAXS実験結果と一致した立体構造を得ることができ、それに基づき、構造変化メカニズムを推定することができる。

## 連絡先

[所属] 横浜市立大学生命医科学研究科

[名前] 池口満徳

[E-mail] ike@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp

# X線小角散乱情報の相関解析

## [技術の概要]

- X線小角散乱(SAXS)と他の構造情報を組み合わせて、拘束条件付き分子動力学計算を行うことにより、全ての入力情報を満足するタンパク質の立体構造を系統的かつ合理的に構築する。
- 特にSAXSとタンパク質の二次構造情報のみから、アミノ酸残基レベルの精度で立体構造を迅速かつ簡便に求めることができる。この際に必要な入力データは、実測SAXS曲線とアミノ酸残基毎の二次構造情報である。

### 提供するプログラム

SAXS\_MD (Webサイトにて公開)

## [技術の利用例]

- NMRにSAXSの束縛を加えることにより、NMR単独の場合よりも高精度の立体構造を構築した。
- 部分変性構造を有するタンパク質のSAXSデータと二次構造情報から、分子の立体構造アンサンブルを計算した。

### 連絡先

[所属] 東京薬科大学生命科学部

[名前] 小島正樹

[E-mail] mkojima@toyaku.ac.jp

# X線小角散乱から得られる構造の精密化

## [技術の概要]

- X線小角散乱(SAXS)データからab initio計算により得られたビーズモデルに対し、グラフ理論のアルゴリズムを用いて、主鎖候補をトレースする。
- N末端からC末端までトレースできなかった場合は、最長トレース経路を出力する。

## 提供するプログラム

TraceBeads (Webサイトにて公開)

なおプログラムは、近接ビーズどうしを辺で結んでグラフを作成するMakeEdgeと、作成したグラフからハミルトン路を探索するHamilton-Pathから成る。

## [技術の利用例]

- 同一の実測SAXSデータから、ab initio計算プログラムGASBORによりビーズモデルを多数構築し、各モデルに対してTraceBeadsを適用した。

## 連絡先

[所属] 東京薬科大学生命科学部

[名前] 小島正樹

[E-mail] mkojima@toyaku.ac.jp