海外における利用と評価 —DESY, EMBLでの例—

北海道大学理学部 田 中 勲

Isao TANAKA: Application of Imaging Plate to Biological Crystallography —
Use and Evaluation in Foreign Country

2次元検出器によるデータ収集が既に一般化している欧米の結晶学研究室においても、イメージングプレート (IP) によせる関心は大きい。しかし、特許等の障害もあって、IP回折計をデータ収集にルーチ的に使っている研究室はまだほとんどない。その中で、HamburgのDESYのKeith Wilsonのグループは早くから、イメージングプレートに着目し独自のIP回折計を開発している。この装置は強度の読み取りがレコードプレーヤーのように行われること、1面だけの平板にIPを張り付けてあることなどMACサイエンス社のDIP100に類似している。プレートの直径は20cm、ピクセルサイズは $180\mu\text{m} \times 188\mu\text{m}$ (DIP100ではそれぞれ、20cm, $125\mu\text{m} \times 125\mu\text{m}$)

である。また、読み取り時のIPの回転速度を可変にしてIP周辺部と内部での読み取り速度が変化するのを防いでいる。同装置はDESYのシンクロトロンの蛋白質結晶用のビームラインに設置され1989年4月から実際に使われ始めた。筆者の訪れた10月までの半年の間に100以上のデータの収集に使われていた。DESYの研究室内部でもSav-
inase, Proteinase KのHg, Ala5複合体, SP387 (Trypsin family) など5つの構造を、同装置でとったデータを使って、解いている。また利用者の中でMoscowのAlex Teplyakovはterminase ($M_w=28,000$)の精密化にこの装置でとったデータを利用し、 $1.4\text{\AA}$ の分解能でR値15%を得ている。Hartmut MichelはPhotoreaction centerの高分解能のデータ収集に利用し、あるいは、Ada Yonathはリボゾームの構造解析に同装置を利用している。最近の成果の1つは、Photosynthetase 1 ($M_w=220,000$)のHg誘導体の重原子座標が決定できたことである。実際IPを利

用した場合のパターン関数は非常に鮮明である。第1図はGlucose isomerase Cd誘導体結晶の $1.65-10.0\text{\AA}$ の差パターン関数である。データ収集には、通常1,2分の露光が行われ、その後、読み取り・データ転送・消去に計2.5分かかる。DIP100と同様、一面のプレートしか備えていないため、後者の2.5分はデッドタイムになり、トータルのデータ収集時間は、10時間程度かかってしまう。しかし、データ転送まですべてオンラインコントロールであるのでマンパワーの必要性は少ない。DESYには、X線フィルムを使った通常のArndt & Wonacottカメラも設置してあるけれども1989年前期の間にIPの評価はすっかり定着し、今ではほとんど使う人はいないという。

第1図 Glucose isomerase Cd 誘導体結晶
の差パターン関数
Hamburg IP 回折計によるデータ
($1.65-10\text{\AA}$) 利用

第1表 Data Collections from a crystal (0.7×0.8×0.6mm) of Hen Eggwhite Lysozyme
P. A. Tucker "Errors in Macromolecular Crystallographic Data Collection with Area
Detector Based Instruments", Proceedings of CCP4 study weekend, Jan 1990,
Daresbury Laboratory, より抜粋して転掲

Instrument	CAD4	DIP100	FAST	X100A
Xray Source: $\lambda = 1.5419 \text{ \AA}$				
Generator Type	FR586 Sealed Tube	MX18 Rotating Anode	GX21 Rotating Anode	GX18 Rotating Anode
Focus	Fine	300 μ	300 μ	100 μ
Power	42KV 30mA	40KV 90mA	40KV 70mA	30KV 30mA
Beam Size	1.0 mm	0.6 mm	0.6 mm	0.6 mm
Monochromation	β -filter	Graphite Crystal	Graphite Crystal	Graphite Crystal
Collection				
Dates	30/11-5/12/89	12-14/12/89	27-29/11/89	8-9/12/89
Exposure Time	5100 mins	1500 mins	865 mins	725 mins
Data Collection Rate	1.7 reflns/min	27 reflns/min	45 reflns/min	49 reflns/min
Detector swing angle	As required	0.0	25.0 deg.	22.0 deg.
Frame size and time	---	1.0 deg. for 1000s	0.1 deg. for 30s	0.1 deg. for 30s
Maximum resolution	2.5 $\text{\AA}$	2.04 $\text{\AA}$	2.0 $\text{\AA}$	1.90 $\text{\AA}$
Av. symmetry equivs.	2.0	5.4	4.0	5.0
Processing				
Observations	8828	40750	31181	45578
% obs. with $I < 3\sigma$	3.8	5.7	6.8	10.9
% obs. rejected	0.022	0.081	3.762	7.333
Unique reflections	4929	7507	7641	9085
Rmerge to θ max	-	5.7 %	5.9 %	8.1 %
Rmerge to 2.5 $\text{\AA}$	2.9	-	-	-
Completeness to 2.5 $\text{\AA}$	100 %			
to 2.1 $\text{\AA}$	-	95 %	86 %	97 %
Rref to 2.5 $\text{\AA}$	17.2 %	17.1 %	17.6 %	17.4 %
Rref to 2.1 $\text{\AA}$	-	19.0 %	19.8 %	20.3 %

$$R_{\text{merge}} = \frac{\sum |I_n - \langle I_n \rangle|}{\sum I_n}$$

$$R_{\text{ref}} = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|}$$

(この項 Dr. Keith Wilson, Dr. Zbigniew Dauter, Dr. Jules Hendrix からの情報による。)

Heidelberg の EMBL では、1987年末に Nicolet (現在 Siemens) の X100A と Enraf-Nonius の FAST の 2つの2次元検出器付きの回折計を導入し、約1年後に MACサイエンスの DIP100を備えた。Paul Tucker は、これら3つの市販の蛋白質用2次元検出器付き回折計の評価を、ハードソフト、得られるデータの質などから行っている。第1表は1989年末に3つの装置によりリゾチーム結晶の回折データをとって比較した結果である。DIP100については露光時間を2倍かけているけれども、得られたデータは Rmerge, Rref のいずれからみても他の装置からのデータに見劣りしない。Tucker は DIP100 用プログラムから得られる積分モニターファイル (各反射の2次元的なブ

ロファイルの全情報を持つ。) を VAX コンピュータに転送し Profile fitting による積分を行い、Rmerge が2%程度改良されることを示した。同ソフトは、現在では、PC版も開発され、使用されている。

(この項 Dr. Paul Tucker の好意による。)

私見であるが、当時の DIP100 と比べ現在国内に出回っているものは、さらに改良が加えられているので、他の2次元検出器との差はさらに小さくなっていると思われる。理学電機社製の IP 回折計 RAXIS-IIC も、米国の Woodlands TX. の MSC 社 (Molecular Structure Corporation) にて稼動し始めたと聞いている。IP 回折計の開発はまだ日が浅いし、IP そのものの改良も進められている。今後 IP を利用した回折計がさらに発展していくことを期待する。