

SAXS法による構造解析の特徴

結晶構造解析

回折パターン \Leftrightarrow 分子構造

SAXS

散乱曲線 \leftarrow 分子構造(モデル)

NMR

スペクトル \rightarrow 分子構造

原子座標から散乱強度の計算

$$I_{\text{calc}}(q) = \langle I_{\text{calc}}(\vec{q}) \rangle_{\Omega}$$

$\langle \dots \rangle_{\Omega}$ は逆空間での球面平均を表す(詳細は下記参照)

https://www.ls.toyaku.ac.jp/~bioinfo/aboutus_j/SAXSintroduction.pdf

$$I_{\text{calc}}(\vec{q}) = |F(\vec{q}) - \rho A_0(\vec{q})|^2$$

$$q = |\vec{q}| = \frac{4\pi \sin \theta}{\lambda}, \quad \lambda; \text{X線の波長}, 2\theta; \text{散乱角}$$

$F(\vec{q})$: 真空中の散乱振幅

$$F(\vec{q}) = \sum_j f_j(\vec{q}) \exp(\sqrt{-1} \vec{q} \cdot \vec{r}_j)$$

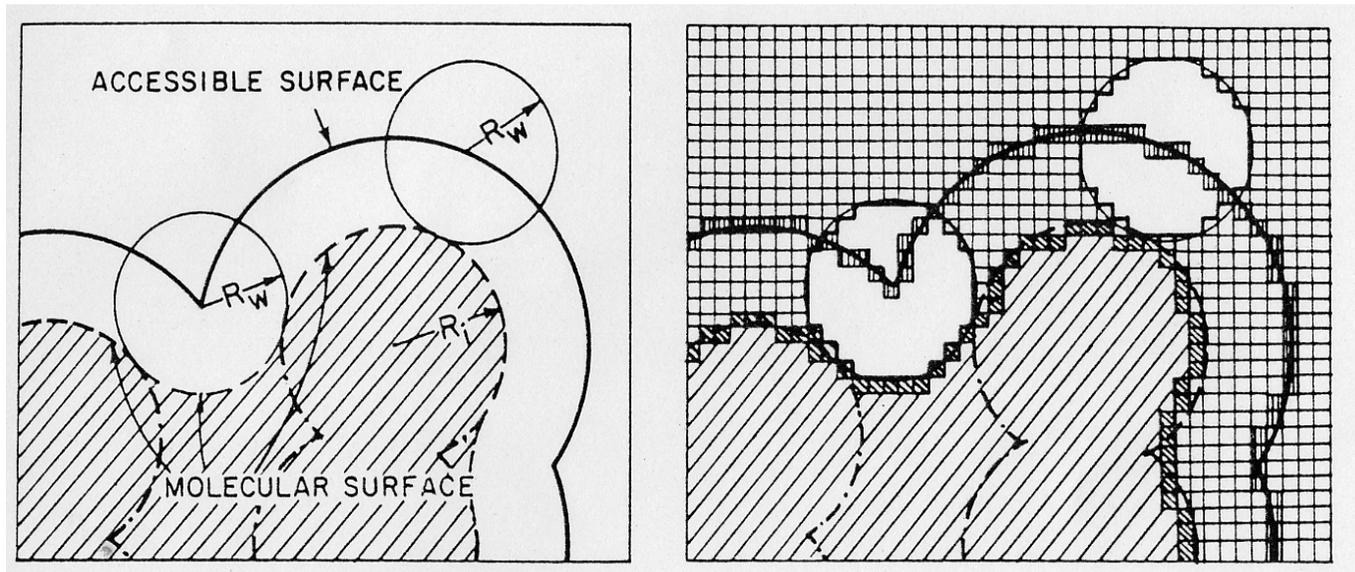
$f_j(\vec{q})$: 原子 j の散乱振幅

$A_0(\vec{q})$: 排除体積 V の散乱振幅(単位電子密度あたり)

ρ : 溶媒の電子密度(バルク領域の水では $0.334 \text{ e}/\text{\AA}^3$)

$$A_0(\vec{q}) = \int_V \exp(\sqrt{-1} \vec{q} \cdot \vec{r}) d\vec{r}$$

排除体積と散乱振幅の計算 ← modified cube method



Pavlov & Fedorov, *Biopolymers* **22**, 1507- 1522 (1983)

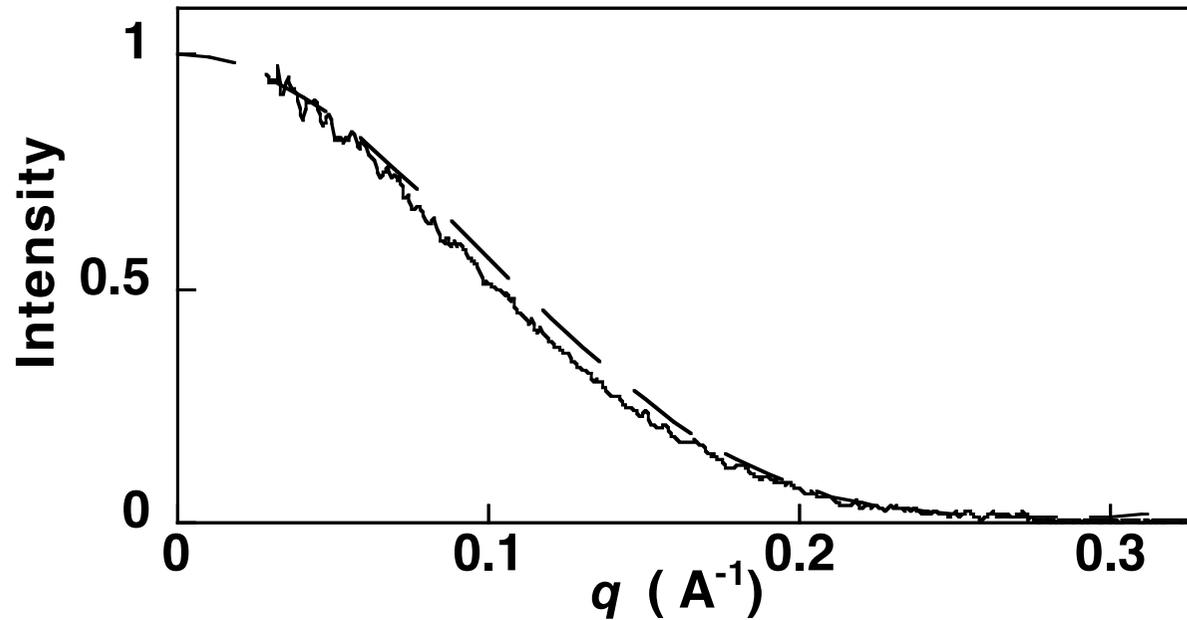
1. 空間を1辺 0.3\AA のcubeに分割
2. cubeを慣性主軸に沿ってparallelepiped状に積み上げる
(分子の慣性主軸が z 軸となる剛体座標系で計算)
3. **分子表面**よりも内部にあるparallelepipedの $A_0(\vec{q})$ を計算

$$A_0(\vec{q}) = 8 \frac{\sin q_x a}{q_x} \frac{\sin q_y a}{q_y} \frac{\sin q_z L}{q_z}$$

a ; parallelepipedの底面の辺長 ($=0.3\text{\AA}$)
 L ; parallelepipedの高さ

$$\vec{q} = \begin{pmatrix} q_x \\ q_y \\ q_z \end{pmatrix}$$

立体構造決定のアルゴリズム



このタンパク質は、溶液中と結晶中とで立体構造が異なる

→実測データに合うように、モデル構造を修正する

どの向きに動かすかが重要！（恣意性を排除）

←束縛条件付き分子動力学法

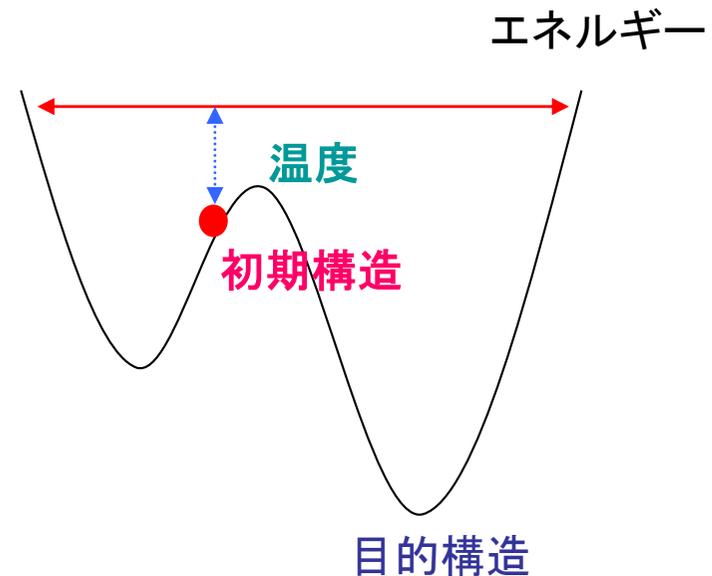
束縛条件付き分子動力学法 (restrained Molecular Dynamics)

モデルから計算した散乱曲線と、実測SAXSデータとのずれを束縛条件として、実測データを満たす立体構造を求める。

SAXSの束縛エネルギー ($I_{obs}(q)$: 実測値, $I_{calc}(q)$: 計算値, k : スケール因子)

$$E_{rest} = \sum_q \left(I_{obs}(q) - kI_{calc}(q) \right)^2$$

各原子に「束縛力」を及ぼすことにより、モデル構造を実測データを満たす方向に動かしていく



SAXS_MDプログラム

SAXSデータを束縛条件とする *J. Appl. Cryst.* **37**, 103-109 (2004)

- cf. 結晶回折データを束縛条件とする→X-PLORなど *Science* **235**, 458-460 (1987)
NMRデータを束縛条件とする→DYANAなど *J. Mol. Biol.* **273**, 283-298 (1997)

$$E_{\text{total}} = E_{\text{physical}} + w_{\text{rest}} E_{\text{rest}} \quad \text{よ} \ddot{\text{r}} \quad \frac{\partial E_{\text{total}}}{\partial x_i} = \frac{\partial E_{\text{physical}}}{\partial x_i} + w_{\text{rest}} \frac{\partial E_{\text{rest}}}{\partial x_i}$$

$$E_{\text{rest}} = \frac{1}{N} \sum_q (I_{\text{obs}}(q) - k I_{\text{calc}}(q))^2 w(q) \quad \text{: 束縛エネルギー}$$

(N : 規格化因子, $w(q)$: 重み)

$$\text{束縛力: } -\frac{\partial E_{\text{rest}}}{\partial x_i} = \frac{2}{N} \sum_q k (I_{\text{obs}}(q) - k I_{\text{calc}}(q)) \frac{\partial I_{\text{calc}}(q)}{\partial x_i} w(q)$$

$$I_{\text{calc}}(q) = \langle I_{\text{calc}}(\vec{q}) \rangle_{\Omega} \quad \text{よ} \ddot{\text{r}} \quad \frac{\partial I_{\text{calc}}(q)}{\partial x_i} = \left\langle \frac{\partial I_{\text{calc}}(\vec{q})}{\partial x_i} \right\rangle_{\Omega}$$

$$\begin{aligned} I_{\text{calc}}(\vec{q}) &= |F(\vec{q}) - \rho A_0(\vec{q})|^2 = |F(\vec{q})|^2 - \rho (F(\vec{q}) A_0^*(\vec{q}) + A_0(\vec{q}) F^*(\vec{q})) + \rho^2 |A_0(\vec{q})|^2 \\ &= I_v(\vec{q}) + \rho I_{vc}(\vec{q}) + \rho^2 I_c(\vec{q}) \quad (*\text{は複素共役}) \end{aligned}$$

$$\therefore \frac{\partial I_{\text{calc}}(\vec{q})}{\partial x_i} = \frac{\partial I_v(\vec{q})}{\partial x_i} + \rho \frac{\partial I_{vc}(\vec{q})}{\partial x_i} + \rho^2 \frac{\partial I_c(\vec{q})}{\partial x_i} \quad (y_i, z_i \text{ についても同様})$$

$$\frac{\partial I_{\text{calc}}(\vec{q})}{\partial x_i} = \frac{\partial I_v(\vec{q})}{\partial x_i} + \rho \frac{\partial I_{vc}(\vec{q})}{\partial x_i} + \rho^2 \frac{\partial I_c(\vec{q})}{\partial x_i}$$

$$\frac{\partial I_v(\vec{q})}{\partial x_i} = 2|F(\vec{q})| \frac{\partial |F(\vec{q})|}{\partial x_i}$$

$$I_v(\vec{q}) = |F(\vec{q})|^2$$

$$F(\vec{q}) = \sum_j f_j(\vec{q}) \exp(\sqrt{-1}\vec{q} \cdot \vec{r}_j)$$

$$= 2q_x (\text{Re}F_i(\vec{q})\text{Im}F(\vec{q}) - \text{Im}F_i(\vec{q})\text{Re}F(\vec{q}))$$

$$\text{ただし } F_i(\vec{q}) = f_i(\vec{q}) \exp(\sqrt{-1}\vec{q} \cdot \vec{r}_i) \quad (\text{Reは実部, Imは虚部})$$

$$\text{いま } \frac{\partial A_0(\vec{q})}{\partial x_i} = 0 \text{ と仮定すると}$$

$$\vec{q} = \begin{pmatrix} q_x \\ q_y \\ q_z \end{pmatrix}$$

$$\frac{\partial I_{vc}(\vec{q})}{\partial x_i} = -2q_x (\text{Re}F_i(\vec{q})\text{Im}A_0(\vec{q}) - \text{Im}F_i(\vec{q})\text{Re}A_0(\vec{q}))$$

$$I_{vc}(\vec{q}) = F(\vec{q})A_0^*(\vec{q}) + A_0(\vec{q})F^*(\vec{q})$$

$$\frac{\partial I_c(\vec{q})}{\partial x_i} = 0$$

$$I_c(\vec{q}) = |A_0(\vec{q})|^2$$

(y_i, z_i についても同様)

$$\frac{\partial A_0(\vec{q})}{\partial x_i} = \frac{\partial A_0(\vec{q})}{\partial y_i} = \frac{\partial A_0(\vec{q})}{\partial z_i} = 0 \text{ の仮定について}$$

連鎖律 (chain rule) より

$$\frac{dA_0(\vec{q})}{dt} = \sum_i \left(\frac{\partial A_0(\vec{q})}{\partial x_i} \frac{dx_i}{dt} + \frac{\partial A_0(\vec{q})}{\partial y_i} \frac{dy_i}{dt} + \frac{\partial A_0(\vec{q})}{\partial z_i} \frac{dz_i}{dt} \right) = 0$$

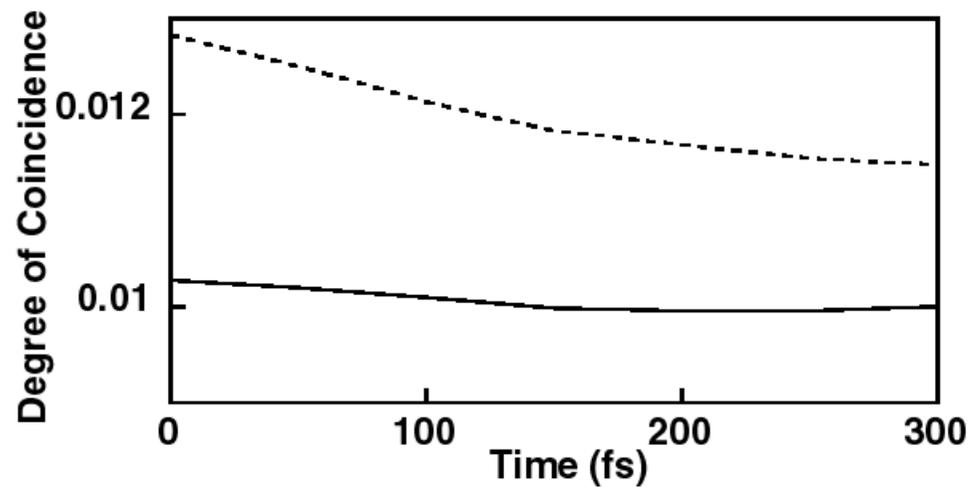
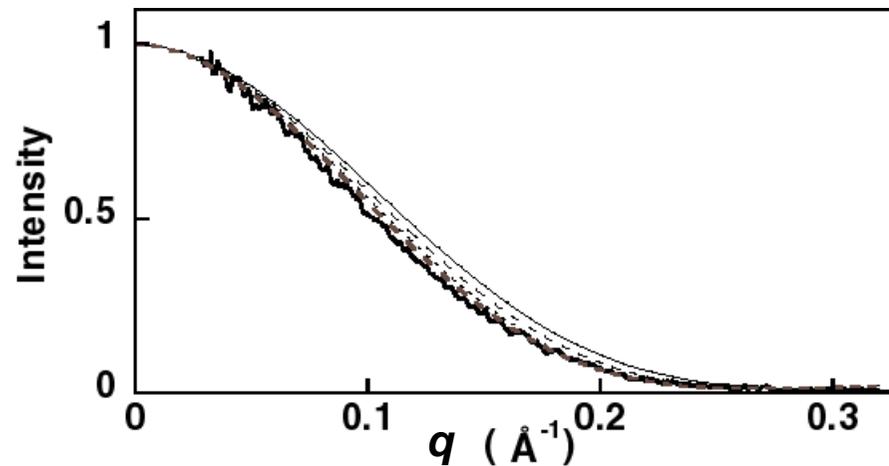
= MDのtime step (通常1 fs) の間 $A_0(\vec{q})$ の値が一定

$$A_0(\vec{q}) = \int_V \exp(\sqrt{-1}\vec{q} \cdot \vec{r}) d\vec{r}$$

← この間 V (分子体積) が不変

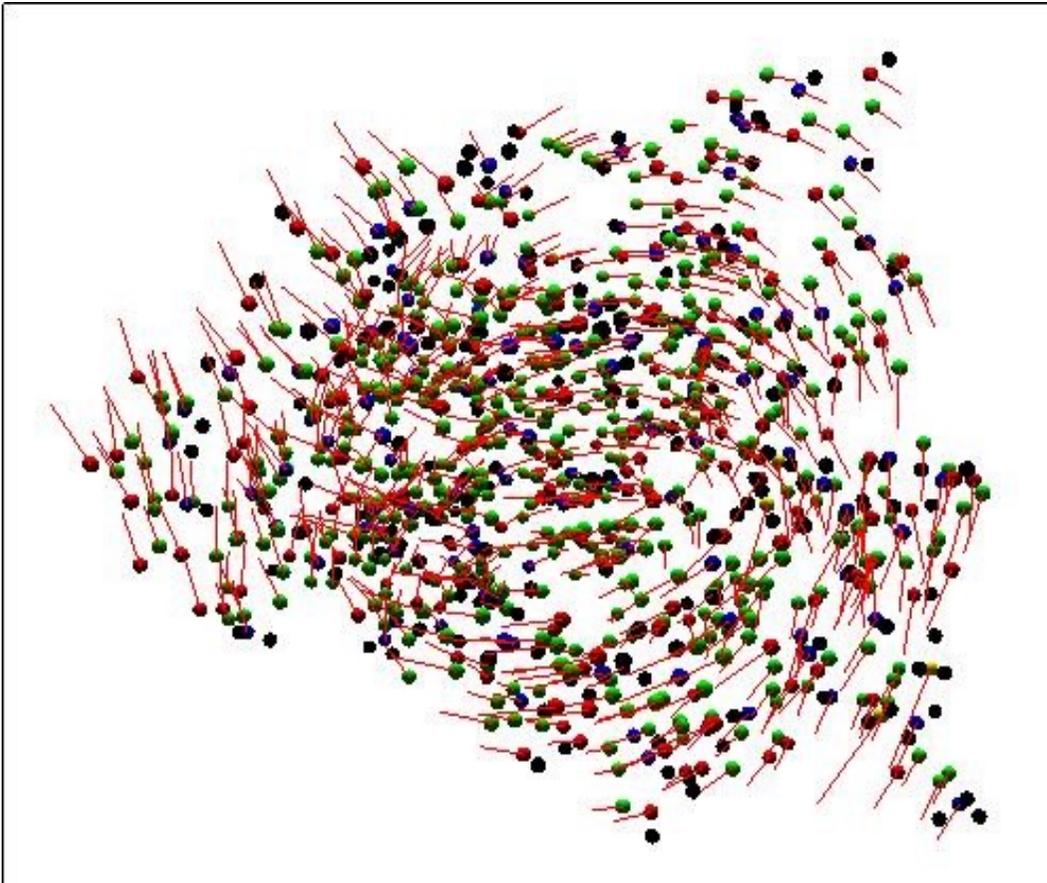
restrained MDによる構造最適化 (300K, 1000 steps)

デモ動画 → <https://www.ls.toyaku.ac.jp/~bioinfo/saxs/gallery.html>



SaxsMDViewによる束縛力場の可視化

Kojima et al., *J. Synchrotron Rad.* **15**, 535-537 (2008)



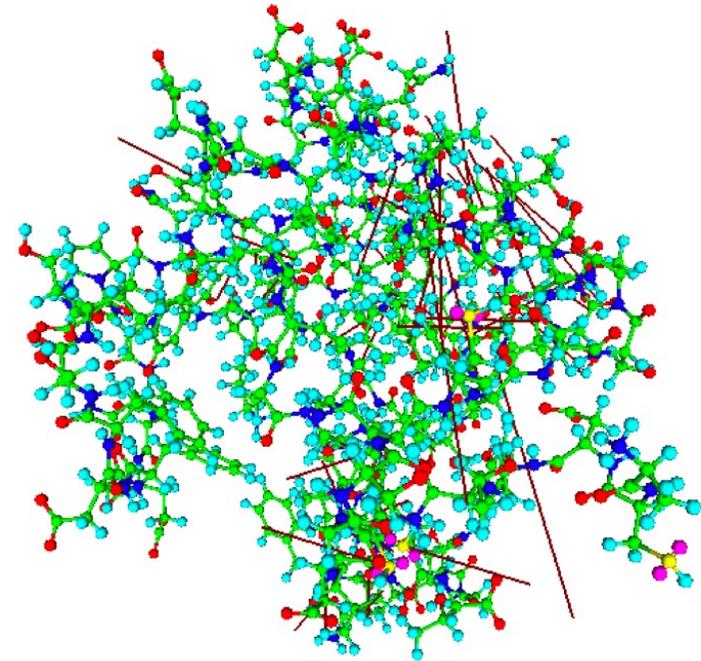
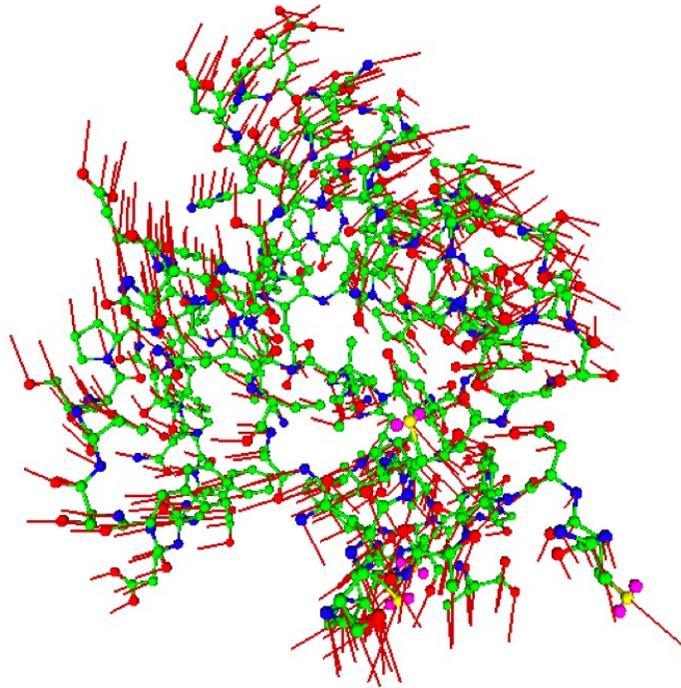
ソースコード: ANSI C
3Dグラフィックス: OpenGL
GUI: OSF/Motif

動作環境: Linux (RedHat, CentOSなど)
一部のmacOSでも動作確認

原子を球で、各原子に働く束縛力を赤いベクトルで表示
束縛力の向きに各原子を動かすと、散乱曲線が実測データに近付いていく

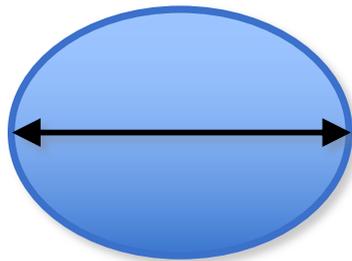
SAXS(左)とNMR(右)の束縛力の特徴

森本ら, *生物物理* 51, 88-91 (2011)

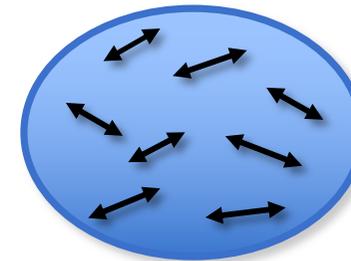


globalな形状やサイズなどの構造情報が
分子全体に束縛をかける

原子間距離情報がlocalな細部構造に
束縛を与える



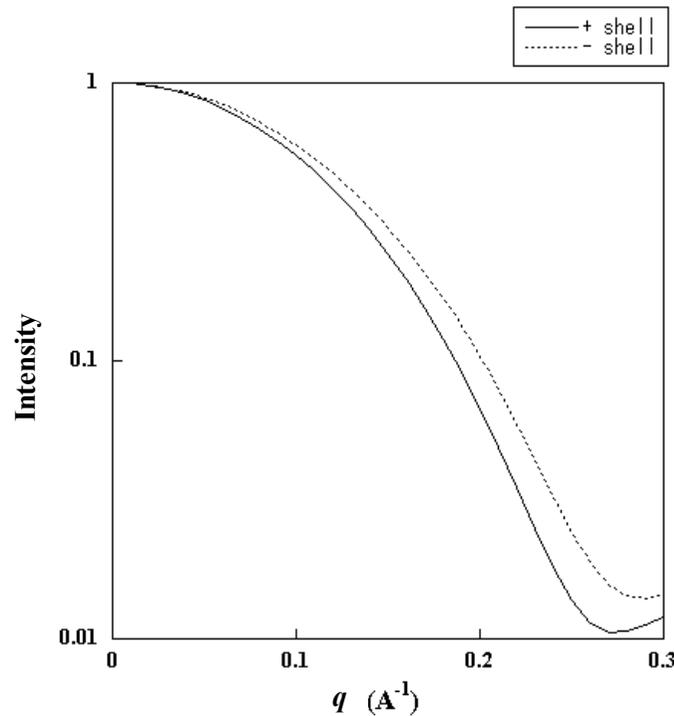
SAXSとNMRの
構造情報の違い



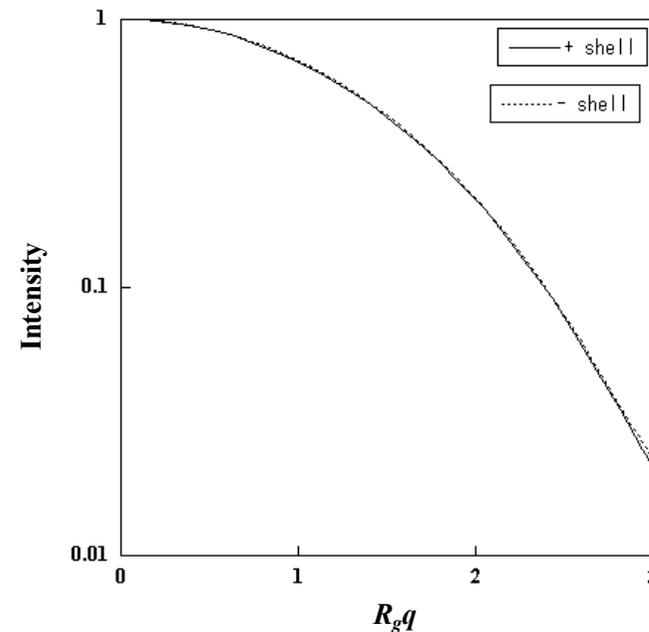
dimensionlessプロット(右)により水和層の寄与は相殺される

SAXSにおける水和層 (hydration shell) の影響は下記参照

https://www.ls.toyaku.ac.jp/~bioinfo/aboutus_j/SAXSintroduction.pdf



横軸は R_g (慣性半径)と q の積で無次元



→ dimensionless scaleの束縛エネルギーを使用

$$E_{\text{rest}} = \frac{1}{N} \sum_{R_g q} \left(I_{\text{obs}}(R_g q) - k I_{\text{calc}}(R_g q) \right)^2 w(R_g q)$$

(R_g は $_{\text{obs}}$ と $_{\text{calc}}$ で異なるので, $R_g q$ の値を揃える)

参考：散乱強度計算法の比較

	modified cube method *	CRYSOL
排除体積の計算	Connolly面内のcubeで構築	Debyeの式
逆空間での 球面平均	立体角 Ω に関する積分	球面調和関数による展開
水和層の寄与	なし (dimensionless scaleで相殺)	あり (密度と厚みを指定)
精度の上限	0.32 \AA^{-1}	0.5 \AA^{-1}
文献	Pavlov & Fedorov, <i>Biopolymers</i> 22 , 1507- 1522 (1983)	Svergun et al., <i>J. Appl. Cryst.</i> 28 , 768-773 (1995)

*SAXS_MD(当研究室で開発したrestrained MD)が依拠する方法