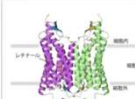




SPRING-8のタンパク質結晶解析ビームライン

微小ビーム ID-BL: BL32XU

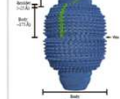
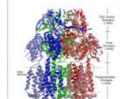
- ・高輝度マイクロビーム ($1\ \mu\text{m}$; $6 \times 10^{10}\ \text{ph/s}$)
- ・微小結晶・高難度結晶対応 $< 1 \sim 10\ \mu\text{m}$



理化学研究所

平行ビーム ID-BL: BL44XU

- ・低発散角 $< 1\ \text{mrad}$
- ・巨大格子結晶・高難度結晶対応 $> 500\ \text{\AA}$
- ・超分子複合体解析



大阪大学蛋白質研究所

電子データストレージ

- ・大容量: 270 TB
- ・オンライン解析
- ・データベース連携



高速ネットワーク

遠隔操作実験

自動化 BM-BL: BL26B1/2, BL38B1, BL12B2

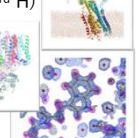
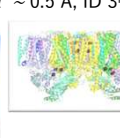
- ・リモート/メールイン
- ・異常分散測定
- ・自動化・ルーチン解析
- ・顕微分光測定/湿度調整



理研, JASRI, 台湾BLなど

大強度ビーム ID-BL: BL41XU

- ・高強度 ($4 \times 10^{13}\ \text{ph/s}$ @ $2 \times 20\ \mu\text{m}$)
- ・原子分解能解析 ($\lambda \sim 0.5\ \text{\AA}$, ID 3rd H)



JASRI

ビームラインとユーザーアクセス

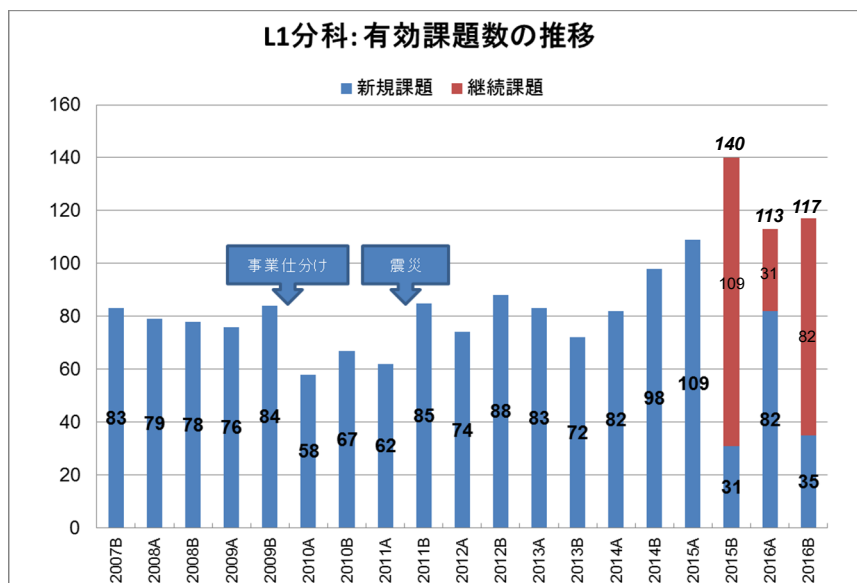
		一般 利用	課題申請先/ 有効期間	成果 専有	創薬等 PF	メール イン	測定 代行
JASRI 共用	BL41XU	80%	JASRI/1年	○	○		
	BL38B1	80%	JASRI/1年	○		○	○
理研	BL26B1	80%	JASRI/1年	○	○	○	○
	BL26B2	20%	JASRI/1年	○	○	○	○
	BL32XU	20%	JASRI/1年	○	○		
阪大	BL44XU	50%	阪大/年度		○		
NSRRC	BL12B2	50%	NSRRC/2年				

JASRI共用課題: 1年間有効

JASRI共用枠先着順利用制度の導入

JASRI一般課題応募状況

L1分科: 有効課題数の推移



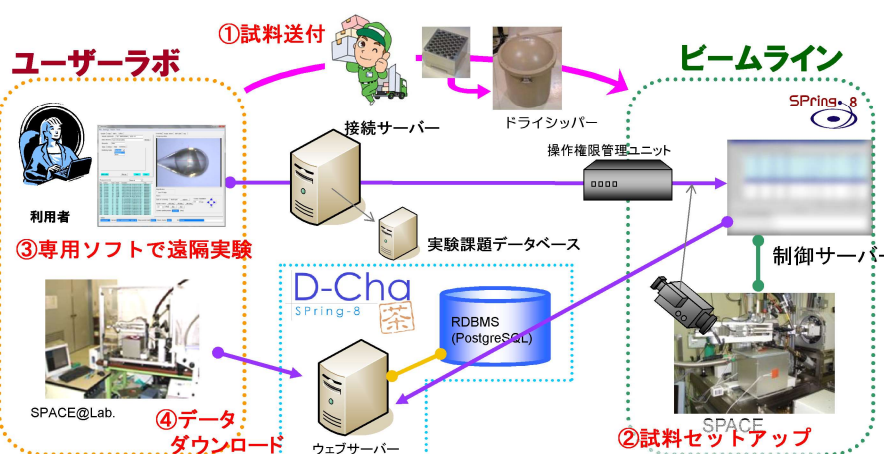
5

リモート測定

遠隔地から意のままに測定

専用ソフトウェアで実現

- ・ 安全教育がe-Learning化. 来所不要に. (<https://harimarken01.spring8.or.jp>)
- ・ BL41XUでの実施に向け準備中 (来年度から開始予定)



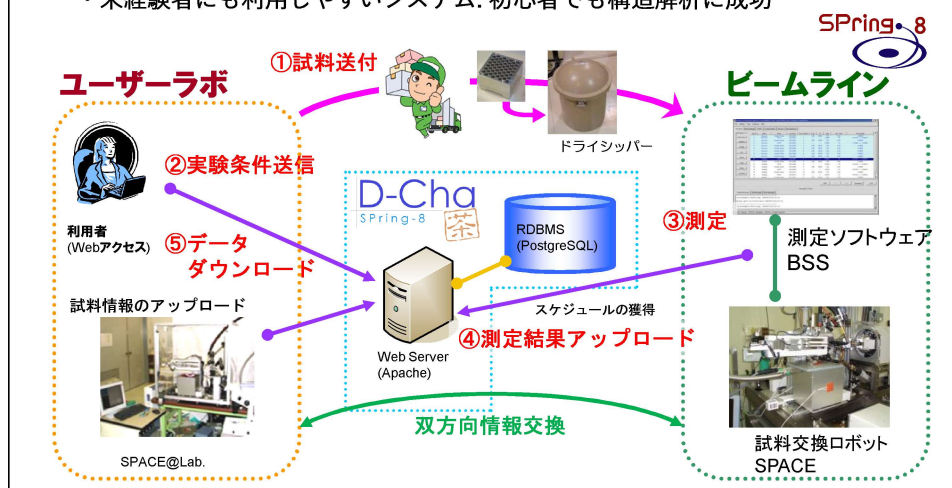
メールイン測定

ビームラインスタッフによる代行測定

成果専有利用・商用測定代行サービス

成果非専有利用・共同研究ベース

- ・信頼性の高いデータ測定: 複数の民間企業の利用実績
- ・未経験者にも利用しやすいシステム: 初心者でも構造解析に成功



若手研究者支援～大学院生提案型課題

大学院生提案型課題 (旧名: 萌芽的研究支援課題)

対象: 博士前期(修士)
および後期課程の大学院生*

目的: 将来の放射光研究の人材育成



【支援】 実施費用のサポート

- 1) SPring-8への旅費 (交通費・宿泊費)
本人と共同研究者1名分の旅費支給
- 2) 消耗品実費負担の免除
(定額10,560円 / シフト+従量分)

【実施例】

耐熱性酵素の動的挙動と反応性にせまる
高温高分解能結晶構造解析にむけて
ADPRase活性中心における
親水性アミノ酸残基の酸解離特性の調査
タンパク質の折り畳みに関与する
ヒト由来分子シャペロンPrefoldinの
X線結晶構造解析

* 課題申請時および実施時に博士前期(修士)課程に在籍中の大学院生、
課題実施時に博士後期課程に在籍中の大学院生

ビームラインのP1実験環境整備

バキュロウイルス／昆虫細胞タンパク発現系

文科省公式見解:遺伝子組換えバキュロウイルスを含む可能性のある試薬を用いる場合、**法令に基づきP1レベルの拡散防止措置**が必要であり、その廃棄に当たっては不活化処理を行う必要がある。

> ビームラインでもP1実験として実施

遺伝子組換え実験実施手順

- ・ 実験責任者は事前に遺伝子組換え実験として申請
- ・ 原則として安全マニュアルに則って実験
- ・ P1実験環境を有するビームライン実験ハッチでのみ実施
現在実験可能な場所: BL41XU, BL38B1, BL32XU

詳細はタンパク質結晶解析推進室まで (bioxtal@spring8.or.jp)

ビームライン周辺機器の整備状況

BL41XU内側室

低温室

BL41XU外側室

結晶化ロボット, プレート観察装置, インキュベータ

BL38B1内側室

サンプルチェンジャー用試料マウント装置 (SPACE)

Fine needle キャピラリマウント装置 + ガス加圧装置

UV光源

BL41XU

微小結晶観察システム

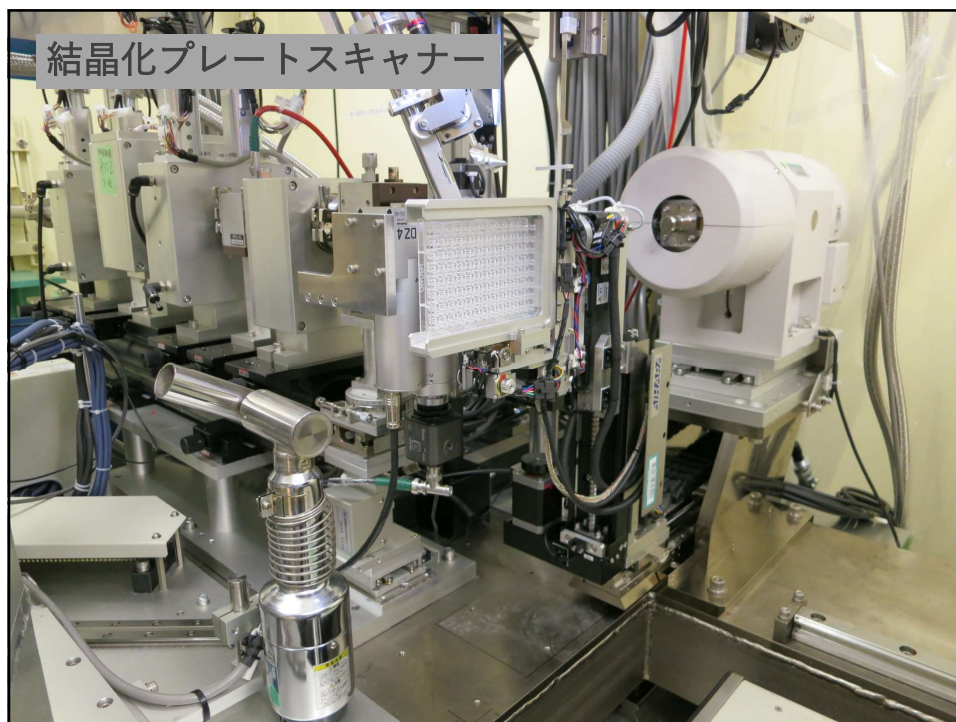
BL38B1/BL26B1

加湿器 (HAG法), **低温チャンバ**

その他

深紫外レーザー加工装置, 溶媒レスマウント

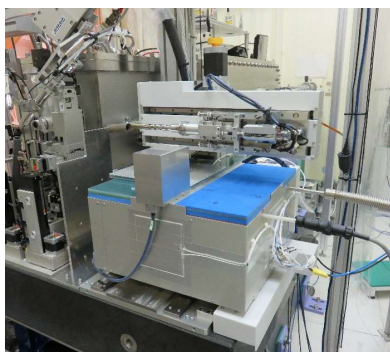
ご利用に際してはご確認を: bioxtal@spring8.or.jp



試料交換ロボットの高性能化

目的：試料交換時間を短縮し、測定を効率化

目標：現状60秒の交換時間を10秒に短縮



概要：サンプル交換ロボットSPACEのサンプル交換時間は現時点で約60秒であり、その内の約45秒がサンプル交換ロボットの動作時間である。本高度化により、サンプル交換時間を10秒以内にできるようにし、実験の高速化を行う

高速化の方法

- ・サンプルピンを掴むアームを1本から2本に
- ・モーターやギアの見直しで動作を高速化
- ・動作シーケンスを見直す

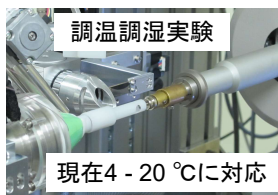
今年度中のBL41XUへの設置を準備中

サンプル交換ロボットSPACE大容量型
(BL41XU, BL32XU, BL44XU, BL26B1/2)

調温調湿下試料測定環境の開発

目的：蛋白質の活性構造解析を実現

目標：調温調湿ガス吹付装置の高機能化と試料調製環境の整備

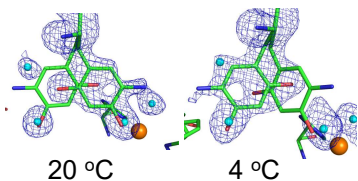


調温調湿実験

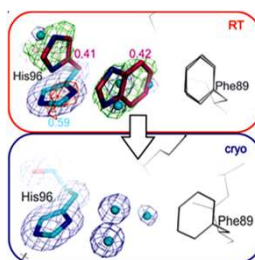
現在4 - 20 °Cに対応

1. 測定装置・方法の高度化
 - ✓ 高温対応（4 - 40°C対応へ）
 - ✓ 高速データ測定法（BL41XUも）
2. 室温測定のための結晶調製環境の構築
 - ✓ サイト内に結晶化環境を整備
 - ✓ 結晶化プレートX線スキャナ@BL26B1

最近の成果：色素蛋白質の
温度依存的な構造変化を検出



Murakawa, Baba et al. 論文投稿準備中



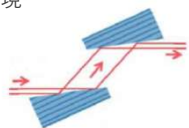
薬剤複合体構造解析にも
温度の効果

Fisher et al. ChemBioChem (2015).
DOI: 10.1002/cbic.201500196

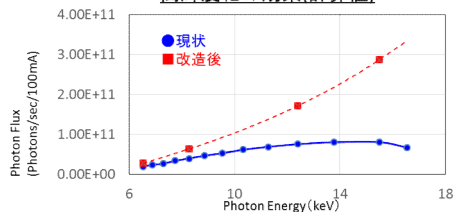
偏向電磁石BLの高輝度・高集光化

非対称反射結晶の開発と導入

- ・入射角を浅くし、広範囲エネルギーを分光
- ・反射面鉛直方向における角度発散が小さい
高エネルギー側は制限される(0.8Å以上)が、
2倍程度の高強度化を実現



高輝度化の効果(計算値)



高輝度化後の性能

	BL38B1		
	Bending Magnet		
Beam size (H x V) (mm)	0.18 x 0.09		
Photon flux (photons/sec)	9.3×10^{10} (@ 1.0 Å)	1.9×10^{11} (@ 1.0 Å)	2.8×10^{11} (@ 0.8 Å)
Flux density (photons/sec/mm ²)	5.7×10^{12} (@ 1.0 Å)	1.2×10^{13} (@ 1.0 Å)	1.7×10^{13} (@ 0.8 Å)
	BL-5A	AR-NW12A	
	Multipole Wiggler	Undulator	
Beamsize (H x V) (mm)	0.20 x 0.15	0.20 x 0.17	
Photon flux (photons/sec)	8.6×10^{11} (@ 1.0 Å)	3.9×10^{11} (@ 1.0 Å)	
Flux density (photons/sec/mm ²)	2.7×10^{13} (@ 1.0 Å)	1.1×10^{13} (@ 1.0 Å)	

短波長X線測定環境の整備



©RIKEN/JASRI

16

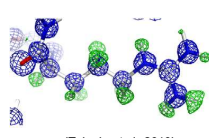
短波長X線測定

高エネルギーX線モード:
エネルギー範囲 20~35 keV
(0.35 – 0.62 Å)

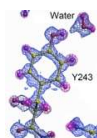
- Undulator 3rd harmonics
- Monochromator Si(111)

目的

- 超分解能回折データ収集
(< 0.8 Å)

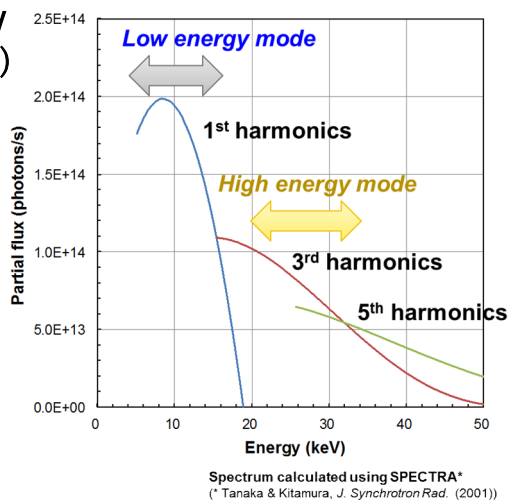


(Takeda et al., 2010)



(Shimizu et al.)

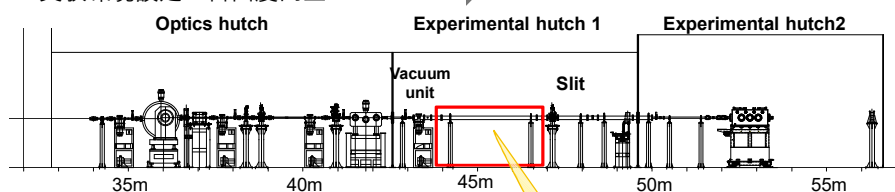
- Xe/I/Pdなどの核種に対する
異常分散測定



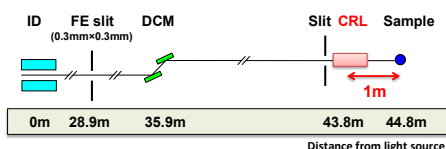
測定環境の整備 @ BL41XU 2015B期よりユーザー実験開始

通常波長モードとの切り替え迅速化
実験環境設定の自由度向上

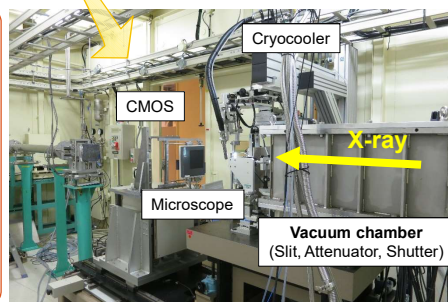
実験ハッチ 1 の活用



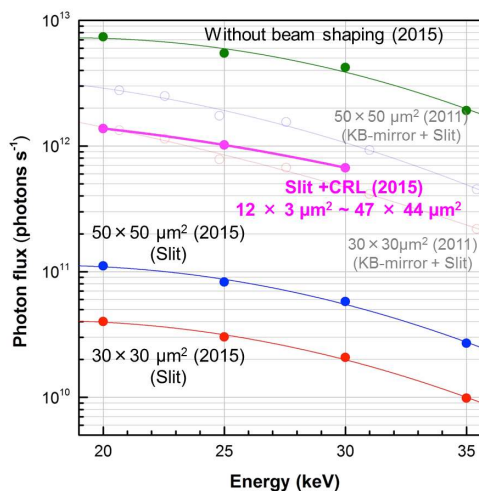
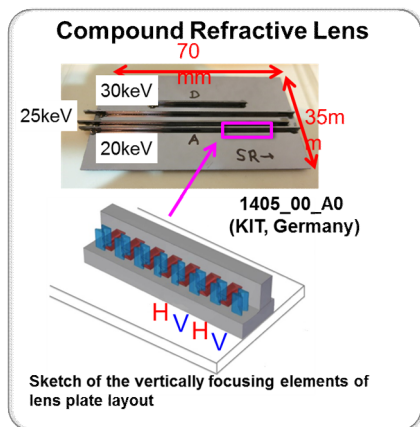
光学系の設定



- Undulator 3rd harmonics
- Monochromator Si(111)
- Compound refractive lens for focusing

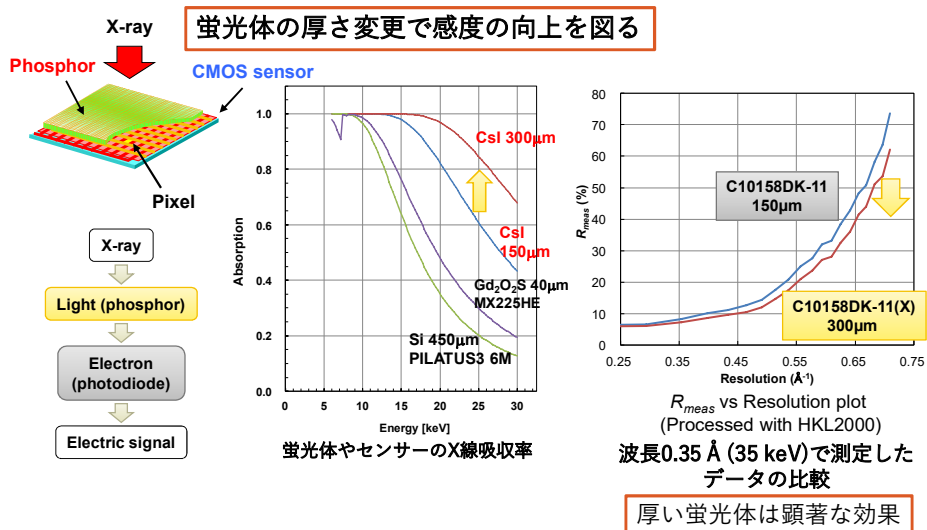


新集光系による微小ビーム化



以前よりも微小なビーム形成が容易に

短波長対応検出器～CMOS flat panel





微小結晶データ測定法

XFEL



1) Serial Femtosecond Crystallography (SFX)

- 極短パルスX線を利用したデータ測定技術 (Liquid Jet等)
- ランダム方位の微小結晶からの大量の回折像を処理 (CrystFEL, XDS)

SR

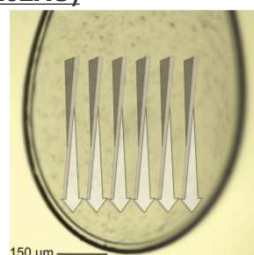


2) Multi-crystal data collection (Zoo system @BL32XU)

- 2Dグリッドスキャンによるサンプル位置マッピング
- マッピング結果に基づく単結晶データの連続収集

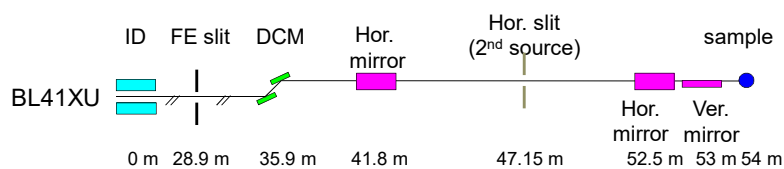
3) Serial SR Crystallography (SSX @BL41XU)

- マッピングせず2Dグリッドスキャンで本測定
- 後の処理はSFXと同様に行う



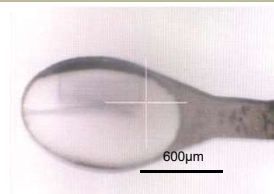
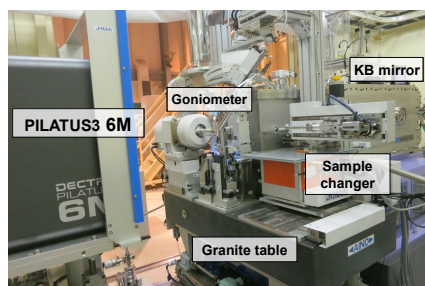
150 μm
Gati *et al.*, IUCrJ (2014)

SSX測定環境 @ BL41XU



二段集光による高輝度微小ビーム
+ 高速ピクセル検出器 @ BL41XU

Photon flux: $2 \times 10^{12} \sim 4 \times 10^{13}$ (phs/s@1 Å)
Beam size: $2 \times 2 \mu\text{m}^2 \sim 35(\text{H}) \times 50(\text{V}) \mu\text{m}^2$



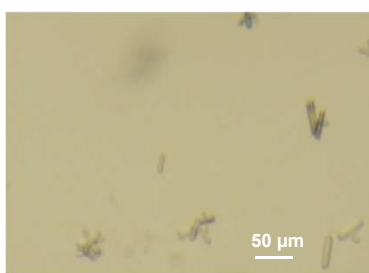
振動を伴った二次元グリッドスキャン

Beam size: $5 \mu\text{m} (\text{V}) \times 4 \mu\text{m} (\text{H})$

Scan step: vertical 10 μm , horizontal 4 μm

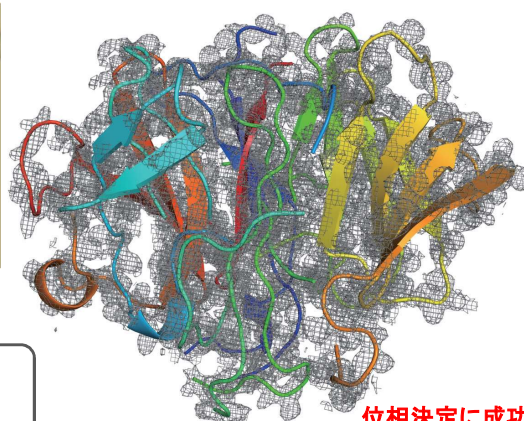
Frame rate: 50 frames/s, Rotation: 0-1° /frame

SSX-SAD法による位相決定の試み ～ルシフェリン再生酵素 (LRE)



LREの微結晶
(幅 2-5 μm , 長さ 10-40 μm)

- $P2_12_12_1$
- $a \sim 48 \text{ Å}$, $b \sim 77 \text{ Å}$, $c \sim 84 \text{ Å}$
- 1 Hg ion / 308 a.a.
- $f'' = 9.71 e^-$ @ 12.6 keV ($\lambda = 0.98 \text{ Å}$)
- $\langle |\Delta F_c| \rangle / \langle F_c \rangle = 0.041$ ($d_{\min} = 2.1 \text{ Å}$)



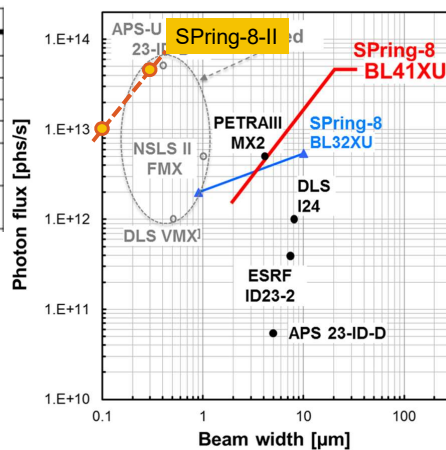
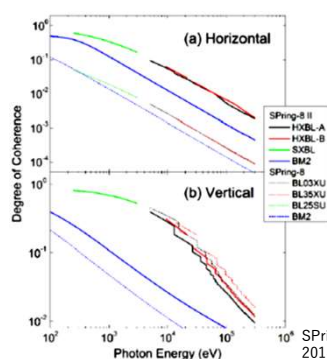
位相決定に成功

Electron density (1σ) & main chain trace of LRE,
(obtained by SSX at BL41XU)

Hasegawa, Yamashita, Nakatsu et al. 投稿準備中

次期計画～SPring-8-II

	SPring 8 II (New)	SPring 8 (Present)
Energy [GeV]	6	8
Beam Current [mA]	100	100
Circumference [m]	1435.4345	1435.9488
Harmonic Number	2436	2436
RF Frequency [MHz]	508.762	508.580
Unit Cell Structure	5 Bend Achromat (w/ Long. Var.)	Double Bend
Natural Emittance [nmrad]	0.149	6.6 (Achromat) 2.4 (Non Achromat)



さらなる微小ビーム化・高輝度化
XFEL/SACLAとの棲み分け

25

成果登録のお願い

SPring-8の運営は、皆様のご利用と研究成果の創出に支えられて
おります。皆様のご理解とご協力をお願いいたします。

登録(マイページ): <https://user.spring8.or.jp/apps/login/>

成果登録について: <https://user.spring8.or.jp/?p=748>

ご不明な点は…

JASRI利用推進部 (sp8jasri@spring8.or.jp)

タンパク質結晶解析推進室 (bioxtal@spring8.or.jp)

26