

第一期ビームライン建設の抱負と現状

◇タンパク質結晶解析ビームライン建設の現状と抱負

日本原子力研究所・理化学研究所
大型放射光施設計画推進共同チーム
利用系グループ
神谷 信夫

1. 生命科学とタンパク質結晶解析

生命科学の多くの領域では、それぞれに中心的な役割を演じるタンパク質があり、その立体構造に関する情報の有無が、その領域の盛衰を左右してきた。そのため生命科学に携わる研究者はこれまで、タンパク質の結晶構造をルーチン的に解析する手法の出現を待ち望んでいた。しかしながら、タンパク質の結晶解析法として従来から用いられてきた重原子多重同型置換法（MIR）には、良質の重原子誘導体を多数、試行錯誤的に見つけなければならないという基本的な制約があり、そのルーチン化は困難であった。

さてSPring-8の真空封止型アンジュレータは、高エネルギーから低エネルギーまで隙間のない超高輝度X線を与える。これをMIRに利用すれば、重原子誘導体に対する無分散測定（高エネルギーX線を利用）と異常分散測定（低エネルギーX線を利用）を同一のビームラインで行える。これらの2種類の測定データを組み合わせれば、従来よりは少ない重原子誘導体から、よりルーチン的な構造解析が可能となる。

タンパク質結晶解析の最終的目標は、生命を構成する主要なタンパク質の立体構造を可能な限り解明してデータベース化し、細胞内のタンパク質間相互作用を推論することである。この最終的目標の達成には、上記の構造解析のルーチン化とともに、結晶試料の大きさや解析可能なタンパク質の分子量に対する制限を取り除いて、解析対象の拡大をはかることも重要である。本ビームラインの高エネルギー・高輝度特性は、タンパク質結晶解析につきまとう試料のX線損傷を押さえながら、50 μ m程度の微小結晶や分子量が数百万をこえる超分子集合体など、本質的にX線回折強度の弱い試料からのデータ収集をも可能にするものである。

2. ビームラインの概要

我々のビームラインは光源として、周期長3.2cmの真空封止型アンジュレータを利用する。このアンジュレータは1次光と3次光により9~38keVの高輝度X線を与えるが、その熱負荷と熱負荷密度はそれぞれ5kW、300kW/mrad²にも及ぶ。この恐ろしい熱負荷を除去するために、第1光学素子としては、出射位置固定の回転傾斜型2結晶モノクロメータ（Si、ピンポスト水冷）を採用した。このモノクロメータは、27keVや38keVの高エネルギーX線に

については 5×10^{-4} 、9~18keVの低エネルギーX線については 2×10^{-4} のエネルギー分解能を達成する。試料位置におけるビームサイズは、水平/鉛直方向に独立な2つの集光ミラー系により100 μm 程度となる。その際のビームの発散角は、100 μrad 程度に押さえられる。こうして得られる光子数は、 $10^{13} \sim 10^{14}$ phs/sである。

実験ステーションでは、カップ型ゴニオメータと大面積(400 \times 600 mm^2)のイメージングプレート(IP)を組み合わせて、ワイセンベルク法により回折強度データを収集する。本ビームラインのX線露光時間は短く、長くても1分以下となるため、ここで利用するIP検出器は、上記の面積を1分以内に読み取れる(画素サイズ:100 μm)ものでなければならない。

MIRによるルーチン解析では、重原子誘導体のデータ収集と平行してその良質を即座に判定する必要がある。そのために本ビームラインでは、回折像の撮影とIPの読み取りを行う一方で、高速サーバーにより構造因子データを計算する。また得られた構造因子データから、構造解析ソフトウェアにより、重原子誘導体としての良否を判定する。こうして良質と判定された誘導体については、重原子のL₁吸収端近くでXAFS測定を行い、適当なX線エネルギーにより異常分散測定を継続して行う。

さきに述べたように、タンパク質結晶解析では試料のX線損傷(特に微小な試料の場合)が重大な問題となる。そこで実験ステーションには、液体窒素温度に試料を冷却できるクライオ・ストリーマを常設する。

最後に、本ビームラインの実験準備室には、試料結晶の保存と重原子化、マウントに要する機材、重原子化と冷却が結晶に及ぼす影響を検定する機材、得られた電子密度分布に対して3次構造をモデリングする機材を設置する。

3. 建設の現状

本ビームラインの建設は、共同チームと、SPring-8利用者懇談会に所属する2つのサブグループ(生体高分子(結晶);代表者:田中信夫、X線構造生物学;代表者:三木邦夫)の協力のもとに行われる。2つのサブグループからの建設協力者は、主に実験ハッチ内の測定装置と構造解析ソフトウェアを担当する。以下に、この建設協力メンバーとそれぞれの役割分担を示す。

XAFS測定系;森山英明(東工大)、試料冷却系;三木邦夫(京大)、
回折計と構造因子計算ソフト;神谷信夫、河野能顕(共同チーム)、
構造解析ソフト;田中信夫(東工大)、濱田賢作(島根大)、田中勲(北大)

なお現在我々は、IP検出器の高速化のためのR&Dとともに、実験ステーションと実験準備室に設置する装置及びソフトウェアに関する仕様決定を勢力的に進めている。

4. 建設に対する抱負

我々は、本ビームラインのユーザとして、タンパク質結晶学を専門としない生命科学一般の研究者をも想定しており、本ビームラインの構成要素や、ルーチン解析で重要となる構造解析ソフトウェアは、利用の簡便性を重視したユーザフレンドリシステムとする。国

の内外を問わず、目的タンパク質の結晶化に成功したタンパク質結晶学及び生命科学全般の研究者により本ビームラインが効率的に利用され、タンパク質の結晶解析の結果が従来にも増して飛躍的に蓄積されることを期待する。

◇第一期ビームライン建設の抱負と現状

東京大学 工学部
泉 弘一

核共鳴散乱SGの提案した計画が採択され、第一期ビームラインに選ばれたことは大変光栄なことであり、期待と責任を感じております。核共鳴散乱ビームラインは核共鳴散乱現象の研究にとどまらず、核共鳴散乱によって得られた超単色なX線を利用した応用研究まで視野にいれて建設を進めていきたいと思っております。計画の概要についてはS R科学技術情報誌に掲載されると思っておりますので、割愛します。ビームライン建設は当初の計画が変更され、複数のSGでの併設が進められており、われわれのSGは表面・界面SGと共同で行うことになりました。現在、合同打ち合わせ会を開きつつ併設についての問題等を協議しております。併設は各SGの要求するX線のエネルギーなどの光源の性質などから決定されたと思っておりますが、核共鳴散乱ビームラインは基本的には精密X線光学実験用に建設する予定で、核共鳴散乱以外の他のSGの実験にも十分利用可能であると考えております。併設については全く問題がなく、ぜひ進めて行くべきだと思います。ただ、併設するからには、その関係するすべてのSGの実験が遂行できなければ意味がありません。将来的に分離独立したビームラインをもつことも視野にいれて、どの程度の実験ステーションを建設していくべきか、どの程度の予算配分で行っていくかなど、分からない点もあり、今後、より詳細な検討を重ね、第二期以降のビームライン計画の参考になるようなビームラインを建設して行きたいと思っております。

