

## BL44XU

### 大阪大学蛋白質研究所 (生体超分子複合体構造解析)

#### 1. はじめに

生体超分子構造解析ビームライン (BL44XU) は、生体内の組織化された機能を理解するために、多様な機構で反応系を制御している生体超分子複合体の立体構造を X 線結晶構造解析法により解明することを目的として、大阪大学蛋白質研究所が中心となって建設を進めてきた。本ビームラインは、学術振興会未来開拓事業、科学技術振興事業団および文部省補正予算より援助を受けて、平成 8 年度から建設を始め、平成 11 年秋から正式に利用を開始した。

#### 2. ビームラインの概要

SPRing-8 標準型の真空封止式アンジュレータを光源とし、光学ハッチ内に設置した回転傾斜型二結晶モノクロメータで単色化して実験ハッチに導入している。実験ハッチ内には水平集光型のロジウムコートミラーが設置しており、高調波の除去と水平方向の集光を行うことができる (図 1)。

本年度は、部分反射の測定精度を上げる目的で高速のビームシャッターを導入した。このシャッターは、従来のものに比べて数倍高速な、1msec での開閉の制御が可能なものである。これにより部分反射の測定精度を上げる他、微小振動写真法への対応が可能となった。

さらに、従来のコリメータの利用に変えて、2 組の 4 象限スリットを導入し、試料位置でのビームサイズを 1  $\mu\text{m}$  ステップで任意の大きさに変えることができるようにした。また、試料直前に取り付けられた出口スリットと組み合わせることにより、スリットからの散乱による低角領域のバックグラウンドを軽減し、100  $\text{\AA}$  以下の低分解能領域のデータ収集を可能とした。

サンプルは水平および垂直式の独立した 2 軸ゴニオメータに取り付ける。検出器は、210x210mm<sup>2</sup>の有効面積を持つ 3x3 アレイ式 CCD 検出器 (Oxford Instruments 社 PX210) または、直径 400mm の有効面積を持つイメージングプレー



図 2 PX210を利用したデータ収集系の全体像

ト検出器 (マックサイエンス社 DIP2040) のいずれかを利用することができる。これらの検出器は、簡単に (10分程度) で交換できるので、実験に合わせた検出器を利用することができる。一般的には、通常のタンパク質の回折強度データ収集には PX210が、格子定数の大きな生体超分子複合体の高分解能の回折強度データ収集には DIP2040が利用される (図 2)。

#### 3. ビームラインの現状

通常は 0.9  $\text{\AA}$  の単色 X 線を用いて実験を行っているが、この時のサンプル位置でのビームサイズ (FWHM) および Photon Flux はおよそそれぞれ 1.0mm (W)  $\times$  0.7mm (H)、 $10^{13}$  photon/sec であり、ミラーにより、横方向のビームサイズを 0.07mm 程度まで集光することができる。スリットの開口を 0.07mm とした時の Photon Flux は  $10^{12}$  photons/sec 程度である。

微小な生体超分子複合体結晶のデータ収集を精度良く行

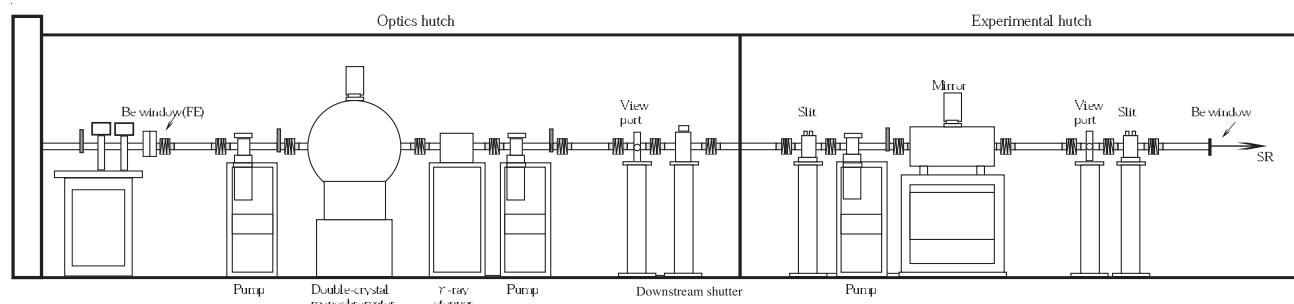


図 1 ビームラインコンポーネントのレイアウト図

うためには、精度の高いゴニオメータを利用する必要がある。本ビームラインには、水平式および垂直式の独立した2軸のゴニオメータを設置してある。通常の実験では偏光因子の関係で水平式のゴニオメータを利用するが、結晶を結晶化母液から取り出すことのできないウイルス結晶等のデータ収集には垂直式のゴニオメータを利用することができる。水平式ゴニオメータの場合、偏心の精度は数 $\mu\text{m}$ 以下であり、現時点での実験には十分に満足できる精度が得られている。

#### イメージングプレート検出器

DIP2040は、1時間あたり13フレーム以上のデータを定期的に収集可能である。本装置の位置分解能は、通常のイメージングプレートと同程度であり、結晶検出器間の距離を変えることにより、格子定数が $1000\text{\AA}$ を越えるサンプルのデータ収集が可能である。実際に、2軸が $600\text{\AA}$ を越える格子定数を持つ結晶に関しては、 $3.5\text{\AA}$ 分解能以上の回折強度データを収集することに成功している。本検出器は、露光時間に比べて読み取りに時間がかかるという欠点を持っているが、格子定数の大きな生体超分子複合体の回折強度データ収集には不可欠な装置である。

CCD検出器PX210は、読みだし時間が2秒、その他の処理を含めて、約5秒の間隔での読みだしが可能となっている。検出器の受光面の面積がDIP2040に比べて小さいという問題があるが、通常の実験はこちらが使われることがほとんどである。

構造解析を成功させるためには、データ収集中にその実験のフィードバックをかけることが必須である。そのために、大容量RAIDシステムと回折強度データ処理のためのワークステーションを設置した。現在、Linux workstation 5式と200+700GBのRAIDシステムが利用可能で、データ収集と平行してデータ処理やDDSおよびDTFといった磁気テープへのバックアップを行うことができる。

また、本ビームラインでは、回転傾斜型二結晶分光器を使用しているため、多波長異常分散法の実験も可能である。

#### 4. ウイルス結晶の回折実験

本ビームラインの重要な研究対象の1つに、ウイルス結晶の回折実験が挙げられる。ウイルスの飛散事故を防ぐために、ゴニオメータ周りの実験装置およびハッチ全体を管理区域に対応できるように、P2レベルの物理的封じ込め設備を設置した(図3)。本設備を利用してイネ萎縮ウイルスの回折強度データ収集を行っている。

#### 5. 共同利用の現状

蛋白質研究所共同研究として全国の研究者からの共同利用実験を受け入れる体制を整えてきた。まず、平成11年5月の課題募集(試行)を行い、さらに平成12年1月の課題

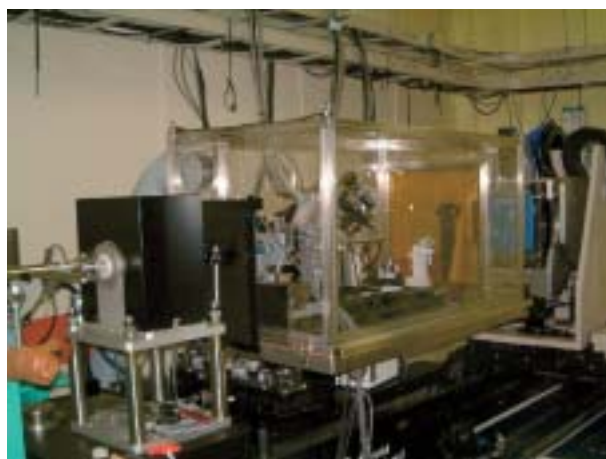


図3 ウイルス実験用P2チャンバー

募集・課題採択を経て4月より共同利用実験を開始した。2001年度は111課題が有効となっている。

共同利用実験課題募集は年1回1月初旬に行われている。

大阪大学 月原 富武・中川 敦史  
山下 栄樹  
理化学研究所 播磨研究所  
山本 雅貴