

構造生物グループ

1. はじめに

構造生物グループはタンパク質など生体高分子の結晶構造解析をキーワードとするビームラインでの共同利用を支援しており、担当するビームラインは、BL38B1、BL40B2およびBL41XUである。また、担当ビームラインについて、従来解析が困難であったサンプルへの解析範囲の拡大と構造決定の迅速化にむけた改良を進めている。BL41XUでは、今年度サンプル位置でのビーム高輝度化および高精度化を中心に、ビーム強度の安定化も含めたビームライン整備を行った。偏向電磁石光源を持つBL38B1及びBL40B2では、回折強度データ収集の迅速化にむけて、実験ステーション制御システムの改良を進めている。これら構造生物グループの担当するビームラインを中心に、2003年度の活動状況をビームライン毎に担当者が分担してまとめたものが本報告である。

また、2003年度も前年度より引き続き重点たんぱく500領域に指定されたタンパク3000プロジェクトにおけるタンパク質の個別解析プログラムの課題を実施している。

利用研究促進部門
構造生物グループ
山本 雅貴

2. BL38B1 (R&Dビームライン)

2-1 はじめに

BL38B1は、R&D(3)ビームラインとして建設され、2001年度から共同利用も含めて本格的な運用が開始されている。本ビームラインでは、タンパク質立体構造のルーティン化を目標に、そのビームタイムの一部をタンパク質結晶解析課題に提供してきた。タンパク3000プロジェクトの開始に伴い、タンパク質結晶構造解析ビームタイムの需要が高まったため、われわれはBL38B1を、構造ゲノム研究を支援するための重点ビームラインとして位置づけ、理研・構造ゲノムビームライン(BL26B1&B2)において開発された迅速データ収集システムを導入した。

2-2 迅速データ収集システムの導入

新しいデータ収集システムでは、タンパク質結晶構造解析ビームライン機器の共通化をめざしBL26B1&B2やBL41XUと同じ実験定盤とゴニオメーターを使用している。(図1)この実験定盤はCCD検出器とIP検出器を切り替えて使用できるように設計されており、BL38B1では、



図1 BL38B1に導入されたタンパク質結晶構造解析用回折計

CCD検出器としてADSC-Q4R、IP検出器としてRIGAKU RAXIS-Vを遠隔操作により容易に交換することができる。切り替え可能な、読み取り速度の速いCCD検出器と有効検出面積が大きくまたダイナミックレンジが広いIP検出器の使い分けにより、迅速データ収集や高分解能構造解析、格子定数の大きなタンパク質の結晶構造解析などさまざまな実験に対応可能である。実験ステーションの機器制御にはSPRING-8標準制御システムであるMADDOCA(Message And Database Oriented Control Architecture)システムを採用し、ビームライン光学系と実験ステーション機器の制御を一元化した。SPRING-8で実績のある制御システムを用いることにより、安定な回折データ収集システムの構築が可能になっただけでなく、制御系の一元管理が可能となり保守作業を簡素化した。

データ収集には、理研・構造ゲノムビームラインで作られたBSS(Beamline Scheduling Software)を使用する。(図2)BSSから、波長変更、シャッターやゴニオの制御、検出器の読み取りなど全ての制御を一元的に行うことができる。従って、ユーザーはBSSにデータ収集に必要な測定条件さえ入力すれば、XAFSスペクトル測定やMADデータ収集などを容易に行えるようになった。このように、新しい測定システムは、放射光特有の波長変更や分光器のチューニングといった操作をブラックボックス化することにより、ユーザーはビームラインをひとつの自動回折計として容易に操作可能であり、ビームライン実験の効率化が期待される。また、新システム導入による制御系の安定化や、BSSによるユーザーインターフェースの向上は、ビームライン実験時のトラブルを大幅に減少させた。

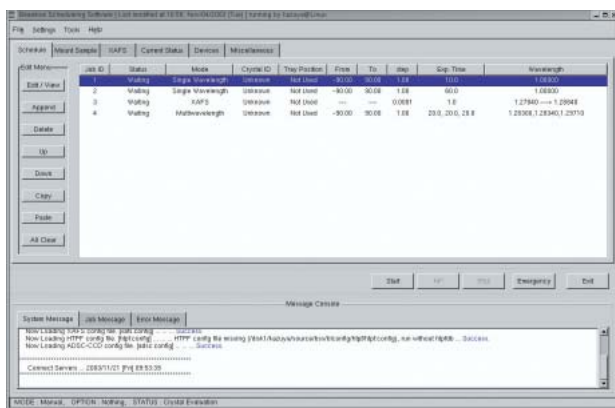


図2 回折データ収集用ソフトBSSのメインウィンドウ
メインウィンドウはスケジュール表になっており、測定を開始すると、登録された測定 (job) が順番に実行される。jobには、結晶チェック、XAFSスペクトル測定、単波長での回折強度測定、MADデータ測定の4種類がある。

利用研究促進部門
構造生物グループ 結晶構造解析チーム
長谷川 和也

3. BL40B2 (構造生物学 ビームライン)

3-1 はじめに

本ビームラインは、タンパク質結晶構造解析と小角散乱実験を目的とするビームラインである。タンパク質結晶構造解析実験では、2003年度も前年度より引き続きタンパク3000プロジェクトにおける重点タンパク500個別解析プログラムの課題が実施されている。一方で、小角散乱実験の課題数の増加に伴い、タンパク質結晶構造解析の利用時間が減少している。本年度は、このように限られた時間の中で有効かつ迅速にユーザー実験を遂行するための改良を行った。

3-2 CCD検出器制御系のアップグレード

BL40B2にはCCD検出器Quantum4R (ADSC、以下Q4R) が導入されており、タンパク質結晶構造解析の標準検出器として使用されている。Q4Rを使用したデータ収集では、1枚当たりのイメージ読出し/書出しに約17秒かかることから、標準的な1データセットの測定(露光時間10秒、180枚収集)に約1.5時間かかっていた。従って、MAD法による測定を実施した場合、3波長分のデータ収集に4.5時間必要であり、1シフトあたり1データセットのデータ収集となっていた。このような状況を受け、ビームラインでの効率的な実験を実現する為に以下の改良を行った。

- (1) ビームラインのネットワークをGigabit化し、データ転送を高速化した。
- (2) ネットワーク上に測定データ用の高速2.3TB容量のディスクサーバーを設置した。
- (3) ユーザーが操作するWorkstation PCをアップグレー

ドした。

- (4) 高パフォーマンスの測定データ解析用PCを2台新規導入した。
- (5) ADSC社によりCCD制御システムのバージョンアップを実施した。

以上の結果、全システムの高速度が実現され、1枚当たりのイメージ読出し/書出し速度が約10秒まで短縮された。従って、1データセットの測定が1時間で終了する事から、MAD法による測定(3波長分のデータを収集)でも1シフト内で2セットのデータを得る事が可能となった。また、システム全体の安定化も実現できた。

利用研究促進部門
構造生物グループ 結晶構造解析チーム
清水 伸隆

4. BL41XU (構造生物学 ビームライン)

4-1 はじめに

構造生物学 ビームライン (BL41XU) はSPring-8の標準アンジュレータを光源としたタンパク質結晶構造解析専用の高輝度ビームラインである。BL41XUでは2003年度、サンプル位置でのビーム高輝度化および光学調整の高精度化をめざした光学系の改良を中心に作業を進め、高輝度化に伴うビーム強度の不安定性についても対策を行った。

4-2 分光結晶更新によるビーム高輝度化

モノクロメータ結晶を最新型のピンポスト結晶に交換した。従来のピンポスト結晶では、ホルダーへの結晶の取り付けにより結晶が歪んでしまい、ロッキングカーブの劣化やビーム発散角の増加を引き起こしていた。最新型のピンポスト結晶では、結晶本体の設計変更と結晶の取り付け方法の改善

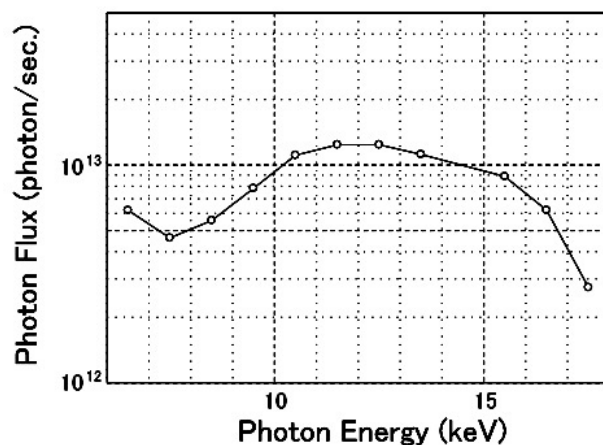


図3 実験ハッチにおけるアンジュレータ1次光のX線強度モノクロメータで分光後、水平・垂直ミラーで集光されたX線強度を実験ハッチ2内のBe窓直下でシリコンPINフォトダイオードを用いて測定した。

により、結晶の歪みが軽減されロックアップカーブが従来のタイプから大幅に改善された。これにより、実験ハッチ入り口でのX線強度が12.4keV付近で 1×10^{13} photon/sec.以上とこれまでの2倍以上に達し(図3) サンプル位置でのビームサイズも試料位置で垂直・水平ともに $150 \mu\text{m}$ 以下(FWHM)とこれまでの半分に向上した(図4)

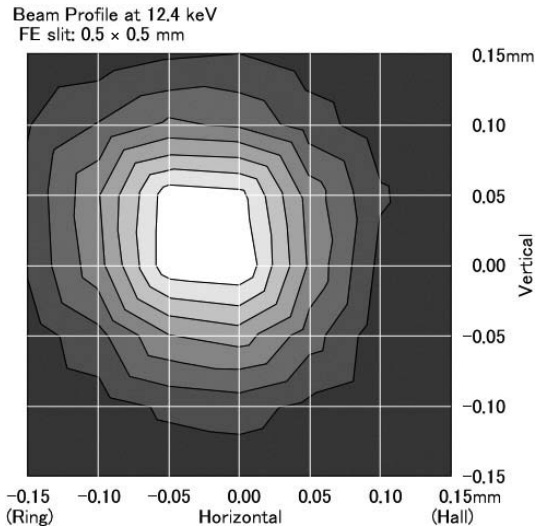


図4 ミラー集光後のX線ビームプロファイル
水平・垂直ミラーで集光されたX線ビームのプロファイルを、試料位置(光源から約52m位置)で4象限スリットによって測定した。測定時のエネルギーは12.4keV、FEスリットの開口は0.5mm×0.5mmである。

4-3 光学調整の高精度化

BL41XUではこれまで図5に示すように、光源から35.9m位置にモノクロメータを、垂直集光用ミラーを39.5mに、水平集光用ミラーを44.0mに配置し、それら光学機器やスリット・真空排気ポートなどをICF70規格の真空パイプで接続する構成になっていた。また、ミラー以降の光学機器をミラー反射光軸上に設置していた。この機器配置では、モノクロメータからのダイレクト光を実験ハッチで直接観測することが出来ず、モノクロメータの高精度調整が不可能であった。そこで、垂直集光用ミラーを水平集光用ミラーの下流に移設し(光源から45.1m)モノクロメータ以下の光学機器を全てモノクロメータからのダイレクト光軸上に設置しなおした上で、垂直集光用ミラーより下流を全てICF175規格の真空パイプに置き換えた(図5)また最下流のBe窓も大口径のもの置き換えた。この変更によって、モノクロメータからのダイレクト光を実験ハッチ2内で直接観測することが可能となり、モノクロメータの調整精度が7~21keVにおける試料位置での定位置出射ズレで $100 \mu\text{m}$ 以下に向上した。

4-4 MOSTABの導入

分光結晶更新によるビーム高輝度化に伴い、実験ステージ上に設置した4象限スリットで $100 \mu\text{m}$ 角に整形後のサンプル位置でのX線強度が蓄積電流値よりも速く減衰するという現象がみられるようになった。調査の結果、

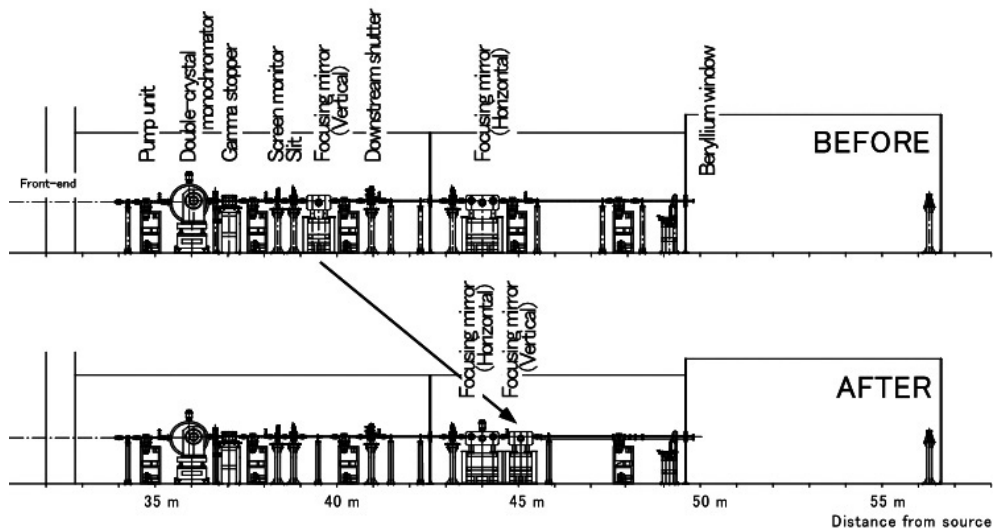


図5 BL41XUの光学機器配置図

上に変更前、下に変更後の配置を示す。垂直集光ミラーを、水平集光ミラーの下流に移設した。また、垂直集光用ミラー下流の真空パイプを大口径化して実験ハッチ2内でダイレクト光を直接観測可能にした。

X線ビームの位置が時間とともにドリフトしていることが分かった。1軸のチューニングによりX線強度が回復することから、モノクロメータの熱歪による2結晶間の平行性のズレが疑われた。ピンポスト結晶の更新により、ロッキングカーブが大幅に改善された結果このような現象が観察されるようになった。この急激な強度減衰を抑えるため、MOSTAB (MOnochrometer STABilize) を導入した。これはX線強度により分光器の1軸ピエゾ素子をフィードバック制御することにより、X線強度を安定化するシステムである。これにより、X線強度の減衰を蓄積電流値の減衰と同程度に抑えることができた。

しかし強度の減衰は抑えられたが、十数時間オーダーの連続使用ではビーム位置が数十 μm ほど移動する現象を抑えることは出来なかった。これは、第1結晶で発生したコンプトン散乱が第2結晶クレイドルを暖めることで2結晶間の位置関係がズレることによるものではないかと考えている。これを抑えるために、2004年度内に第2結晶クレイドルにコンプトンシールドを設置する計画である。

利用研究促進部門
構造生物グループ 結晶構造解析チーム
河本 正秀、酒井 久伸

でも、マニュアルを参照しながらの実験遂行が可能となった。

利用研究促進部門
構造生物グループ 結晶構造解析チーム
河本 正秀、酒井 久伸、清水 伸隆、長谷川 和也

5. ビームライン共通環境の整備

5-1 タンパクBL共通計算機室・P3K共通計算機・試料準備室

各ビームラインでは全てのビームタイムを最大限使ってデータ収集を行っており、割り当てられた時間内に全測定データの解析を終了できない場合も多い。そこで、ユーザータイム終了後も使用可能なタンパクBL共通およびP3K共通の計算機室を整備した。両計算機室には、それぞれ数台の解析用計算機等が用意されており、ビームラインサイドと同様にデータ処理を行える環境が整っている。また、タンパク3000プロジェクトには、様々な温度での結晶化が行えるように6台のインキュベータを装備した試料準備室の整備も行った。その結果、SPring-8サイト内で結晶化から構造決定までを行える環境が整備された。

5-2 実験マニュアルの整備

これまで各ビームラインには検出器の使用方法など個別の機器に関するマニュアルは常備してあったが、試料位置のアライメント、波長変更手順、XAFS測定、解析ソフトウェアの使用法、測定後のデータバックアップ方法など、実験全体の統一的なマニュアルは整備されていなかった。タンパク3000プロジェクトなどビームラインの使用法に不慣れな新規ユーザーの増加に備えて、今回、上記個別の測定手順を全て含んだ総合的なマニュアルの整備を進めている。その結果、ビームラインの使用頻度の少ないユーザ