

# BL41XU

## 構造生物学 I

BL41XUは、SPring-8標準真空封止アンジュレータを光源に持つ共用のタンパク質結晶構造解析用ビームラインである。2008年度も、ビームの性能を活かした高精度・高難度測定を実現させる為に、以下の高度化を実施した。

### 1. 光学系高度化

#### 1-1 高輝度微小ビーム安定化のためのX線分光器の改造

ビームの位置・強度に対する長期安定性を実現するためには、2004年度以降にコンプトンシールドの設置など分光器の熱歪み除去のための対策を行ってきた。コンプトンシールドは一定の効果を見せてビーム強度安定性は向上したが、水路設計の問題からビームに振動が発生し、試行錯誤でその低減化を試みてきたが根治できずにいた。そこで、2008年度では光源光学系部門主導の基でビームの振動の問題を修復し、さらなるビーム安定性を実現するために分光器の改良を行った。分光ピンポスト第1結晶をこれまでの冷却水量3L/minのタイプから1.5L/minのタイプに更新し、熱安定性実現のために改良された新結晶ホルダーを導入した。コンプトンシールドに関しても見直しを行い、分光器の駆動を妨げない範囲でさらに広い領域をカバーできるよう再設計された。冷却水路に関しては、チラーを低流量タイプに交換したうえで光学ハッチ外に設置し、分光器までの流路には乱流による振動防止の為のダンパーを取付けた。これらの導入によってビームの振動は大きく低減し、強度の安定性に関しても改善が見られた。また、分光結晶を新規交換した結果、KBミラー集光後の光のサイズ、及び光子数に改善が見られ、1Åは試料位置で縦50×横80μm<sup>2</sup>

(F.W.H.M) で $1.4 \times 10^{13}$ photons/秒となっている。

### 2. 回折計高度化

#### 2-1 ピンホールスリットの導入

タンパク質結晶構造解析の分野では、年々構造解析のターゲットとなる試料の高難度化が進行しており、その結果として測定結晶サイズは微小化（～20μm、または10μm以下）し、またサイズに関わらず得られた結晶が不均一であったり多結晶体であったりする場合も多い。これらの結晶から良質なデータを取得するためには、微小結晶と同等のサイズで高光電子密度なビームが必要で、不均質結晶を測定する場合でもその良質部分のみにビーム照射できれば構造解析を成功させることが可能となる。BL41XUでは、これまでKBミラーにより集光した光を、2つの4象限スリットで20～30μmサイズに切り出す事で微小ビームを作成してきた。2008年度から、さらなる微小ビーム形成を目指して試料直前に10μmピンホールコリメータ（神津精機製）を導入した。ピンホールはタンタル製で、試料位置でのビームサイズはφ12μm (F.W.H.M) となっており（図1）、1Åの試料位置での光子密度は $2.5 \times 10^9$ photons/秒/μm<sup>2</sup>を達成した。一方、このピンホールビームを使ってX線回折実験を行ったところ、回折イメージ上ではピンホール自体から発生する寄生散乱がダイレクトビームストッパーの影周辺に観測された。図2で示すように厚み17μmのアルミ箔を円錐状に巻き付ける事で十分に散乱除去する事も可能であるが、カメラ長に応じて影の大きさは変化する為、実験時に定常的に利用可能な散乱除去ガードの開発を現在行っている。

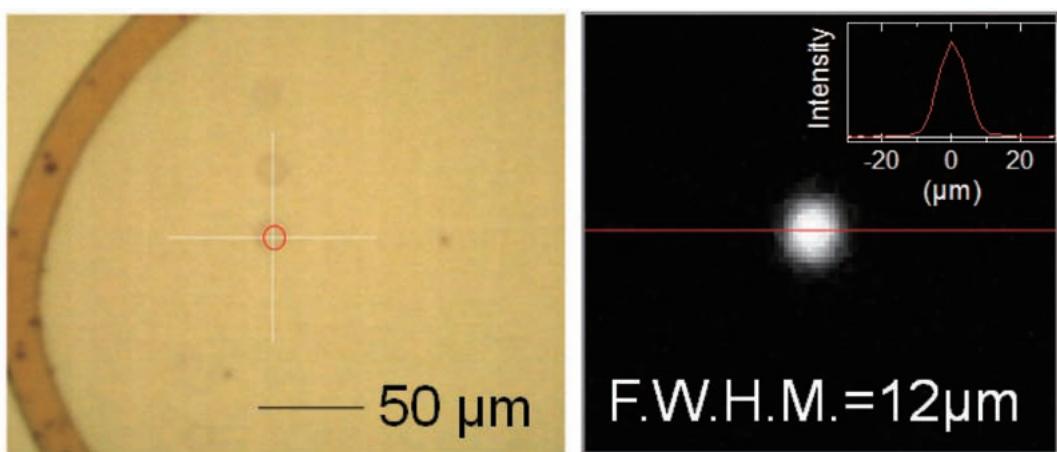


図1 10μmピンホールビーム。左は、100Kで抗凍結溶液がビームにより焼けた様子を表している。右は、試料位置でダイレクトビームモニターにより計測したビームプロファイル。

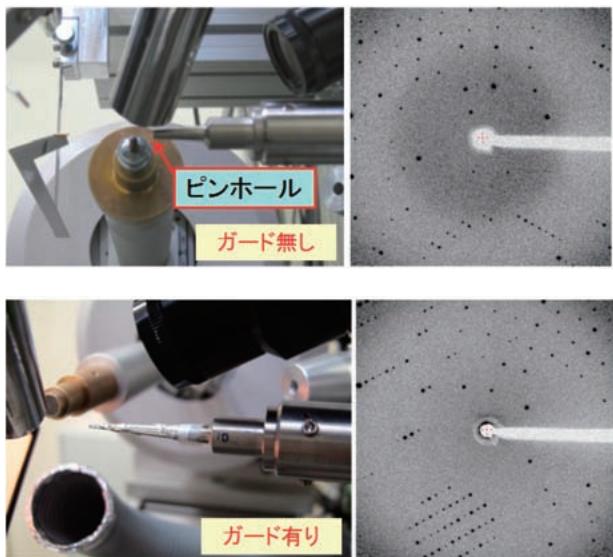


図2 10μmピンホールビームにて計測したニワトリ卵白リゾームの回折イメージ。上は、ピンホールからの散乱除去ガード無しのイメージで、下は、アルミ箔で製作した散乱除去ガード有りのイメージ。散乱除去ガードが無い場合、ピンホールからの散乱がビームストッパー周辺部に観測されている。

## 2-2 低偏心ゴニオメータの導入

このような微小ビームを同等サイズの結晶に照射して高精度に回折実験を行う為には、結晶を回転させるゴニオメータにも高い偏心精度が必要である。そこで偏心精度0.6~0.7μm、回転速度180度/秒というエアペアリングタイプの低偏心高速ゴニオメータ（神津精機製）を導入した（図3）。



図3 低偏心高速ゴニオメータ（神津精機製）

同機はサーボモーターで駆動する為、現行の制御系に即したシャッターとゴニオメータの同期駆動を実現する為に、VMEの設定変更・信号中継器の新規開発などを行い、新たなシステムを構築した。その結果、試料センタリングが効率化されただけではなく、Inverse Omega Setting（1度の振動写真測定を180度ずつ反転させながら行う）での測定も通常の測定とほぼ同等の時間で実施できるようになり、さらに高精度なデータ収集、精密位相決定が可能となった。

## 2-3 カメラ長自動追従型Heチャンバー

上記のような高難度試料の場合、良質結晶を得にくく、また得られる分解能も低い（3Å以下）場合がほとんどである。そのような結晶試料を測定する場合は、一般的に分解能に合せてカメラ長を遠ざけて測定する事になるが、試料から検出器面までの空気による吸収で回折線の強度は減少するため、特に高角度領域の微弱な回折強度を精度良く測定する事が困難である。そこで、試料から検出器までの空気を可能な限りHeガスに置換する為にHeチャンバーを開発した（図4）。本チャンバーは、Heパス長の変更に自動ステージを用いており、ユーザーが設定したカメラ長に応じてHeパス長を自動変更する事が可能である。チャンバー上流面は厚さ9μmのポリイミドフィルムで仕切られているが下流側には何も仕切りではなく、回折線は全面のポリイミドフィルムを貫通して検出器に入射する。一方、本器開発前に行った調査では、ダイレクトビームがポリイミドフィルムに入射するとバックグラウンドレベルが上昇した。従って、それを避ける為にダイレクトビームはビームストッパーで受け止めた後、ビームストッパー直下から検出器面までをHe置換する形態となっている。チャンバーは常時Heガスボンベと接続されているが、カメラ長を大きく変動させた場合にチャンバー内のHeガス充填率が問題となる。そこで、チャンバーと伸縮性を持つHeガスバッファータンクを接続し、カメラ長延



図4 カメラ長自動追従型Heチャンバー（神津精機製）

伸時にはバッファータンクからもHeガスが流入し、カメラ長短縮時にはチャンバーからバッファータンクにHeガスが流入するように設計した。その結果、チャンバーとバッファータンク間でスムーズなガス移動が可能となり、「カメラ長の高速変更」と「He充填率一定」という相反する二つの条件が担保されている。

## 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

清水 伸隆、長谷川 和也

馬場 清喜、水野 伸宏

牧野 正知、熊坂 崇