

BL44XU 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 (現 科学技術振興機構) および文部省 (現 文部科学省) 補正予算より援助を受けて、1996年度より建設を始め、1999年秋から正式に利用を開始した。その後も補正予算の他、タンパク3000プロジェクトやJAXAとの共同研究などの外部資金により、検出器や光学系、光学ベンチなどの高度化を進めてきた。

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液体窒素冷却式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)。

回折強度データ測定部は、 μ 軸回転機構付高精度ゴニオメータ、可動式ダイレクトビームストッパーや蛍光検出器および照明装置を組み込んだファンシーボックス、2次元検出器および試料冷却装置から構成されている (図2)。

通常は0.9 Å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) は0.5 mm (W) × 0.4 mm (H) である。この波長におけるTotal photon flux は 10^{12} を超えており、 $0.07 \times 0.07 \text{ mm}^2$ のスリットの開口幅を使用した時、 10^{11} photons/sec以上のビーム強度が得られている。微小結晶の実験など、より高

いFlux densityを必要とする場合、水平集光ミラーを用いて、横方向のビームサイズを0.05 mm以下に集光することができる。

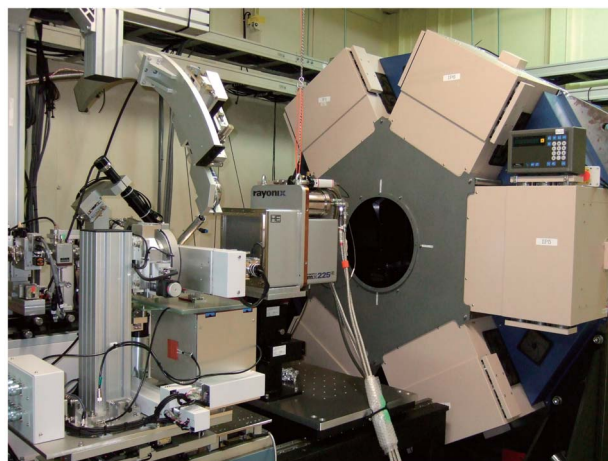


図2 データ収集系

2-1 ゴニオメータ部

ゴニオメータ部は、高速シャッター、ビーム整形部、ゴニオメータ、試料観察用CCDカメラ、可動式ダイレクトビームストッパーを含むファンシーボックスから構成されている (図3)。これらは、すべて光軸調整機構を有している他、高速シャッター以外のコンポーネントはすべて3軸制御可能な共通のステージの上に乗っており、ハッチ外のPCから簡単に光軸調整を行うことができる。

高速シャッターは、1 msecでの開閉の制御が可能である。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ている。

ビーム整形部は、ビームの形状の制限とスリット自身に

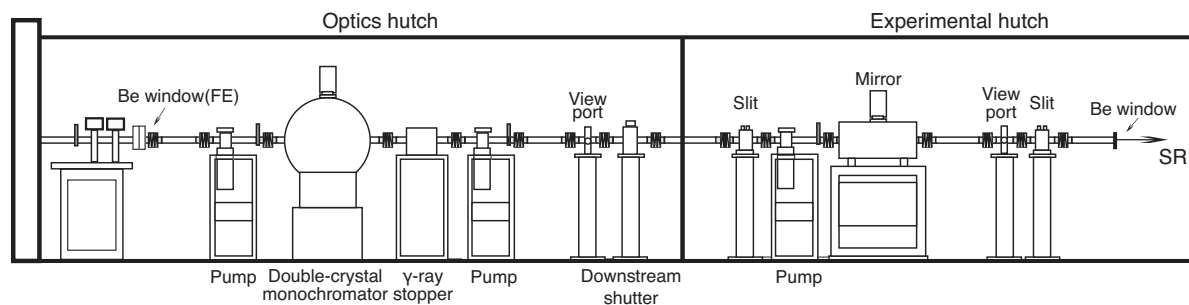


図1 ビームラインコンポーネントのレイアウト図

よる散乱の問題を解消するために、2式の4象限スリットとビームパスを兼ねた0.3 mmφの出口スリットから構成されている。4象限スリットは1 μmステップでの制御が可能である。これにより、結晶の大きさ・形に合わせたビームの切り出しが可能である。上流にビーム整形用の4象限スリットを、そこから30 cm程度下流に出口スリットを設置することにより、スリットからの散乱の問題を解消し、100 Å以下の低分解能領域のデータ収集を可能とした。

ゴニオメータは、微小結晶のデータ収集のために精度の高い（最大偏心精度が±1 μm以下）1軸式を利用している。さらに、このゴニオメータは、試料回転軸（φ軸）をX線の仮想光軸に対して0°から15°まで傾斜させることが可能である。

ゴニオメータに取り付けた結晶は、ズーム式望遠鏡とカラーCCDの組み合わせにより約500倍に拡大してハッチ内およびハッチ外で観察可能である。また、結晶のセンタリング（および望遠鏡のズーム比の変更）は制御用PCから行うことができる。

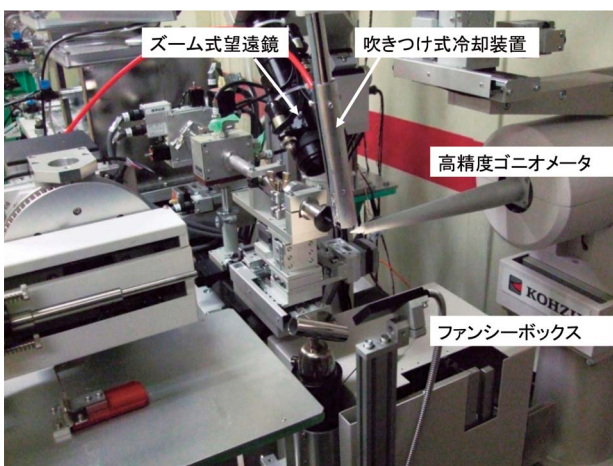


図3 ゴニオメータ部

2-2 2次元検出器

検出器は、従来から利用しているイメージングプレート（IP）検出器とCCD検出器を組み合わせたハイブリッド型2次元検出器（DIP6040, MAC Science / Bruker AXS）に加えて、本年度から台湾Academia SinicaとNational Synchrotron Radiation Research Center (NSRRC)との共同研究協定に基づいて導入された高感度CCD検出器（MX225HE, Rayonix）が利用できるようになった。通常のデータ収集では、高速読み出し可能なCCD検出器（MX-225HE）が利用されている。

2-3 試料冷却装置

タンパク質あるいは生体超分子複合体のデータ収集には、試料の冷却は不可欠である。通常は、液体窒素を利用

した試料冷却装置を用い100 K付近の温度でデータ収集を行うが、より低温での実験を行うために液体ヘリウムを用いて35 K程度に試料を冷却することも可能な、試料冷却装置を利用することができる。窒素とヘリウムの切り替えは実験に応じて簡単に行うことができる。

2-4 多波長異常分散法への対応

本ビームラインでは、液体窒素間接冷却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。通常の利用では、0.7~1.7 Å領域の実験には、ユーザーによるビーム調整なしで、簡単に多波長異常分散法のための波長校正も含めた波長変更を行うことができる。

2-5 ユーザーインターフェイス

2008年度に、SPring-8の他のタンパク質結晶学用ビームラインで利用されているデータ収集システム（BSS）を導入した。これにより、SPring-8の他のタンパク質結晶学用ビームラインの利用経験があれば、わずかな教育のみで本ビームラインを利用することができる。

3. 共同利用の現状

蛋白質研究所共同研究員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、全ユーザータイムの50%を共同利用に供しており、2009年度は100件の課題が有効となっている。海外からのユーザーに対しては、蛋白研国際共同研究員制度を利用した旅費のサポートも行っている。さらに、台湾NSRRCとの共同研究協定に基づいて、Academia Sinicaを中心とした台湾構造生物学研究グループに対してビームタイムを供している。

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他、重要な研究成果が期待され新たに結晶ができたものに関しては、緊急課題として随時実験課題を受け入れている。

4. ターゲットタンパク研究プログラム

文部科学省ターゲットタンパク研究プログラムの技術開発研究解析領域「高難度タンパク質をターゲットとした放射光X線結晶構造解析技術の開発（代表：若槻壮市）」の分担として、「微小結晶からのデータ収集のためのデータ処理技術の開発」を進めている。

5. 超分子複合体の代表的な成果

Vaultは、分子量13000万の巨大な蛋白質核酸複合体である。Vaultの結晶は、空間群C2に属し、格子定数が $a=707.2$ 、 $b=383.8$ 、 $c=598.5$ Å、 $\beta=124.7^\circ$ の巨大な単位格子からできている。本ビームラインを利用して、3.5 Å分解能の回折強度データの収集に成功し、その原子構造を決定した（Tanaka *et al.*, Science, 2009）。

5. 国際共同研究

台湾国立放射光研究センター（National Synchrotron Radiation Research Center）との間で2007年3月に締結した研究協定に基づいて、ビームラインの相互利用や高度化に関する共同研究を進めている。

大阪大学

中川 敦史、鈴木 守

山下 栄樹、月原 富武

(独)理化学研究所・播磨研究所

(財)高輝度光科学研究センター

山本 雅貴

(財)高輝度光科学研究センター

熊坂 崇