

BL38B1 構造生物学Ⅲ

BL38B1は、挿入光源のビームラインよりも放射線損傷の影響が少ない偏向電磁石を光源とした安定性の高いビームを利用し、高精度に異常散乱のシグナルを利用した位相決定が可能であり、効率的かつ高精度な回折データ測定を行うことを目的としたタンパク質結晶構造解析ビームラインである。

2003年以降データ測定ソフトウェアBSS (Beamline Scheduling Software)^[1]の導入、新型CCD検出器、大面積IP検出器の導入を行ってシステムの構築を進め、ユーザー実験の利便性を高めるべく効率的な実験環境の整備を実施してきた。2005年度～2009年度には自動サンプルチェンジャーSPACE (SPRING-8 Precise Automatic Cryo-sample Exchanger)^[2]の導入を行うとともに、メールイン測定システムを導入して自動運転のための試料情報、測定条件、回折データなどの管理を行う環境を整えた。さらに、新しい検出器の導入と試料周りの高度化を行い、より高速で高精度な測定を行うことが可能となった。その結果、波長1 Åでは観測することが難しい硫黄 (S) の微弱な異常分散因子を用いたSAD (Single-wavelength anomalous diffraction) 法で、卵白リゾチーム結晶の位相決定が可能となった。

2010年度は、集光系の改善による高集光化、大面積のCCD検出器の導入、サンプルチェンジャーSPACEでのマグネットピン対応の高度化を行い、データ収集時間の短縮と実験の高効率化、より長波長での測定を可能とした。

1. 集光系の改善によるビームの微小化と高密度化

放射光で測定される結晶のサイズは年々小さくなってきている。この現状をふまえて、さらなる高集光化が可能な実験ハッチ内の定盤のレイアウトを検討した。その結果、試料位置のビーム強度 (Photon Flux) が1.2倍に向上、ビームサイズが $w87 \times h180 \mu\text{m}^2$ と横方向の集光が向上し、光子密度 (Flux Density) は2.4倍に向上することができた (図1)。大きさ $50 \times 50 \times 50 \mu\text{m}^3$ の卵白リゾチーム結晶は、従来の集光系では露光時間が 1° 当たり20 sec、 90° 分のデータを収集した場合50分程度必要であったが、この高集光化によって 1° 当たり3 sec、 90° 分のデータを収集した場合8分で測定が可能となった。波長1.9 Åでの測定は、これまでのレイアウトでは疑似トロイダルミラーの角度の影響で3次光による回折が観測され、利用が困難であったが、集光系の改善後は波長1.9 Åにおいても3次光由来の回折が観測されることなく測定が可能となった。また、高集光化により、長波長での測定もより短時間で可能となった。

2. 高分解能及び長格子の結晶の測定を可能にする大面積検出器の導入

2009年度には、測定のオーバーヘッドが2.5秒と短いADSC社製Quantum 210を導入し、高速なデータ測定が可能となった。しかし、検出器の面積が $210 \text{ mm} \times 210 \text{ mm}$ であり、最短カメラ距離75 mmで、波長1.0 Åで最大分解

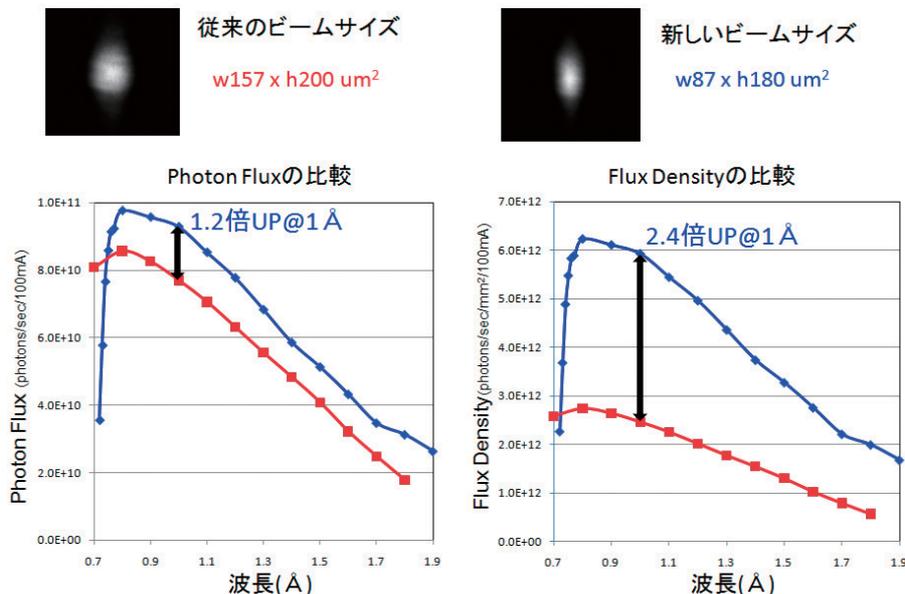


図1 集光系の改善前後のBeam profileの比較

能1.09 Å、波長1.5 Åで最大分解能1.64 Åの測定を可能としたが、200 Åを超えるような長い格子長の結晶を測定する場合に回折点の重なりが生じたり、波長1.9 Åのような長波長利用時に分解能が不足したりしていた。

そこで、検出器の面積が315 mm×315 mmと大面積であるADSC社製Quantum 315を導入した(図2)。その結果、300 Åを超えるような長い格子長の結晶を測定する場合にも、回折点の重なりが生じることなく、測定が可能となった。また、波長1.9 Åのような長波長利用時でも、最大分解能1.77 Åの測定が可能となった。また、タンパク質結晶に匹敵するような巨大な超分子を形成した有機分子結晶を解析するユーザーが利用する際には、分解能0.8 Åを超えるような回折点を得られる事がある。高集光化後に利用可能な波長は0.75 Åであり、最短カメラ距離75 mmで、最大分解能0.70 Åで測定が可能となった。

3. サンプルチェンジャーの高度化

BL38B1では、ジュラコン製のねじ込み式専用ピンを使用してサンプルチェンジャーSPACEを利用していた。専用ピンの大きな利点はマウント時の位置の再現性にあり、一度人の手でセンタリングし、その座標情報をデータベースに記録しておけば2回目以降はそのデータベースに基づくセンタリングが可能である。従って、昼間のうちに人の手でスクリーニングをしておけば、夜間は無人での連続データ収集を実行させることができる。

一方、タンパク質結晶解析の分野では金属製のマグネット式ピンが一般的に広く流通しており、2つのタイプのサンプルピンを共にSPACEで使用できる環境が要望されていた。そこで2010年度は、マグネット式ピンを利用可能とするアタッチメントを導入し、ユーザーの利用形態によって専用ピンまたはマグネットピンのどちらかを使用前に選択しSPACEを利用することを可能とした。高集光化による測定時間の短縮と相まって、さらに効率的な実験が行えるようになった。その結果、メールインシステムを活用した測定代行とリモート測定の普及に目途が立った。

参考文献

- [1] Ueno, G. *et al.*: *J. Synchrotron Rad.* **12** (2005) 380-384.
 [2] Ueno, G. *et al.*: *J. Appl. Cryst.* **37** (2004) 867-873.

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

馬場 清喜、水野 伸宏
 星野 武司、長谷川 和也
 清水 伸隆、山本 雅貴
 熊坂 崇



図2 IPステージ上に取り付けたCCD検出器用のステージとQuantum 315