# BL38B1 構造生物学Ⅲ

BL38B1では、偏向電磁石を光源とした安定性の高いビームを利用し、効率的かつ高精度な回折データ測定を行うことを主な目的としている。特に、安定なビームに加え、挿入光源のビームラインに比べ放射線損傷の影響を小さくした測定が容易で、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。2005~2010年には自動サンプルチェンジ ₹ — SPACE (SPring-8 Precise Automatic Cryo-sample Exchanger) [2] の導入とマグネットピン対応の高度化を行 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、大面積のCCD検出器の導入と 試料周りの高度化、集光系の改善による高集光化を行い、 より高精度な測定、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。その結果、従来、 波長1 Åでは観測することが難しい硫黄 (S) の微弱な異 常分散効果を用いて、0.85 Åの短波長でも卵白リゾチーム 結晶のSAD (Single-wavelength anomalous diffraction) 法による位相決定が可能となった。

2011年度は、遠隔実験システムの共用利用を開始することができた。また、ビームラインの高度化として倍率変更同軸カメラを導入と、顕微分光装置の性能向上を実施した。その他、新たなタンパク質結晶マウント手法として水溶性高分子と湿度調整を用いる方法の開発を行った。なお、2011A期には、2010年度末に発生した東日本大震災への支援として設定された「量子ビーム施設震災優先枠」により、被災した量子ビーム施設で実験が困難となった課題を実施した。

## 1. 遠隔実験の開始

SPring-8の構造生物ビームラインでは、効率的な実験環境の整備を行ってきたが、遠隔地のユーザーにとっては移動に時間がかかるなど、実験以外の点で非効率な部分があった。そこで、JASRI制御・情報部門が開発した遠隔実験システム[3]の導入を進めている。

当グループでは、生体分子結晶の回折データ測定を遠隔で行うために、ソフトウェアの新規開発、及びBSSをベースとした機器制御サーバーの開発を理研・基盤研究部と

共同で行ってきた。理研ビームラインでは2010年より遠隔実験を先行的に開始し、システムの改良を進めてきたが、共用ビームラインでの実施に当たっては、一般ユーザーの利用面・安全面での運用体制を整える必要がある。そこで、2011年度前半に理研・JASRI安全管理室やJASRI利用業務部を交えた協議を行い、SPring-8の放射線業務従事者であることを前提に、新たに用意する遠隔実験に関する教育を受講していることなど、一定の条件を満たすユーザーに利用を認めることとした。これを踏まえ、BL38B1では、2011B期より共用ビームラインで初めて遠隔実験を開始し、2組のユーザーグループが利用した。

今後は、ソフトウェアの高機能化やSPACEの大容量化など利便性の向上を図るとともに、BL41XUなどの挿入光源ビームラインへの導入を行う予定である。

## 2. 試料観察用カメラの倍率可変同軸レンズの導入

放射光で測定されるタンパク質結晶のサイズは研究の進展により年々小さくなっている。この現状を踏まえ、これまでに集光系の改善によるビームの微小化と高密度化を行ってきた。それに伴い、X線の位置に試料をセンタリングするために必要な試料観察用同軸カメラについても、高倍



図1 試料観察用の倍率可変同軸レンズとCCDカメラ

率化の対応を進めていた。また、近年キャピラリーに封入した結晶で測定を行うユーザーも増えており、同軸かつ低倍率での観察を可能にする必要があった。そこで、すでにBL41XUで導入し、運用実績のある倍率可変同軸レンズを導入した(図1)。また、CCDカメラ本体も変更することで、BL41XUよりも可変倍率を低倍側にシフトして運用している。

## 3. 顕微分光装置の性能向上

共用ビームタイムで運用している顕微分光装置は、使用前の設置と調整に1日程度必要なため、効率的な運用を行う上で問題となっていた。特に、寄生散乱を除去するための試料位置前後のピンホールの設置作業が時間を要する作業であったため、ピンホールの代わりに試料位置の後方にカセグレン集光系を導入した。この結果、調整時間を8時間程度にまで短縮できた。今後は、装置の安定性向上を目指した高度化を行う予定である。

## 4. 水溶性高分子と湿度調整を用いたマウント手法の開発

タンパク質結晶は溶媒を多く含んでおり、溶媒の蒸散など周辺環境の変化によって結晶の質が損なわれやすい。また、低温実験の際の試料凍結時に溶媒が結晶化し、タンパク質結晶の損傷が起きることも多い。したがって、最適な試料保持条件や凍結条件を検討する必要があるが、溶媒結晶の析出を防ぐ抗凍結剤によって起こる損傷や凍結時の溶媒由来の損傷、結晶自体の質の問題などが複合的に関与しているため、凍結後の結晶の質を評価して最適な条件を見つけるのは一般に難しい。このため、抗凍結剤の低減と結晶の評価を的確に行う方法の開発が求められている。

この問題を解決するため、試料結晶を水溶性ポリマーでコーティングし、その周辺の湿度を制御する新たなマウント手法と装置を開発した(図2)。この方法により、結晶を室温で保持した回折実験が可能となるだけでなく、湿度調節によって結晶の質の改善や結晶間の同形性が得られることが明らかとなった。また、保持した条件のまま凍結す



図2 試料位置に設置された湿度調整装置

ることも可能で、幅広い応用が考えられる。今後この手法 の開発をさらに進めていく予定である。

## 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.
- [3] SPring-8年報、2010年度、158.

#### 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、宮野 菜央 長谷川 和也、奥村 英夫 山本 雅貴、熊坂 崇