

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り、膜タンパク質・超分子複合体などの数々の高難度試料の構造決定に貢献してきた。高輝度X線を用いた回折データ測定が可能であることから、下記のような特徴的な測定にも対応している。

1. 最小10 μm 程度の微小結晶や400 Åを超える長格子結晶の回折データ測定
2. 広範囲なX線エネルギー可変性（6.5～35 keV）を利用した多波長異常分散（MAD）法及び単波長異常分散（SAD）法による測定
3. 20 keV以上の高エネルギーX線を利用した超高分解能構造解析

これらの実験環境を実現するため、試料サイズに応じてビームサイズを切り替えて利用できるように、ミラーで集光したビームを試料直前に設置したピンホール（ Φ 10, 30, 50 μm ）を導入しており、裾野の広がりがほとんど無い微小ビームを形成している。また、ビームタイムを効率的に利用するためにサンプルチェンジャーSPACEを導入しており、2010年度の実績では約50%のビームタイムで利用されている。

2011年度は、より効率的なビームライン運用とさらなる高精度データ測定の実現を目指して、以下に示す高度化を実施した。また、量子ビーム施設震災優先枠の設定に伴い、被災量子ビーム施設の課題の受け入れと課題実施の支援を行った。

1. 新規He/N₂クライオ装置の導入

2011年度末に新型のHe/N₂クライオ装置（Cryo industries社）を導入した。これまでは40～100 Kの温度範囲をカバーするために、それぞれのガスに対応した2台の装置が必要であったが、本装置はHe/N₂一体供給型で、吹きつけノズルを切り替えることなくガスを変更できる。これにより混雑していた試料周りのスペースに余裕ができ、他の測定装置の設置が可能となった。また、吹きつけガスの切替えは実験ハッチ外に設置されたコントローラーによって容易に行えるため、これまでスタッフが行っていた1時間程度の切替えが不要となった。さらに、以前の装置に比べて冷却能力が向上しており、Heガスを使った場合は試料位置で約20 Kまで冷却できる。これにより、放射線損傷の抑制に効果的な極低温実験が期待できる。

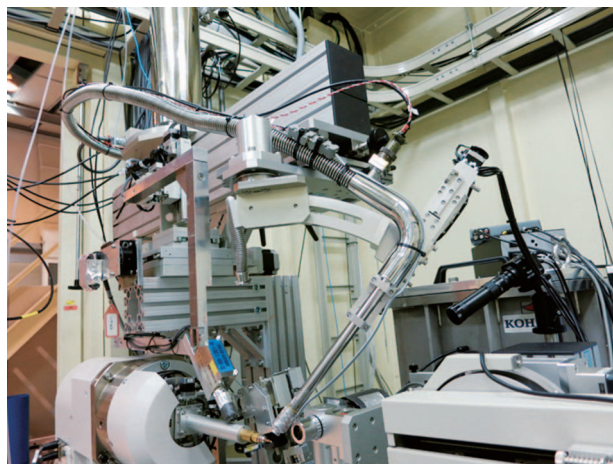


図1 N₂/He クライオ装置



図2 N₂/He クライオ装置コントローラー

2. プレートスクリーニング装置の開発

タンパク質の結晶回折実験でも測定試料の評価は重要であり、以下のような問題にしばしば遭遇する。結晶化条件の検討の際に析出する微小な結晶様の物質が本当にタンパク質の結晶なのか。良質な回折像が得られない原因が元々の結晶の質が悪いのかクライオ条件や結晶のハンドリングに問題があるのか。これらの問題は、結晶化の初期スクリーニングや条件を絞り込む段階で生じて、良質な結晶を得るためのフィードバックを難しくしている。そこで、X線による試料評価を迅速に行ってフィードバックを促すために、タンパク質の結晶化に用いられるプラスチックプレート（結晶化プレート）のままX線を試料に照射するプレー

トスクリーニング装置の開発を進めている。2011年度はこの手法の予備実験ならびに装置とソフトウェアの設計を行った。

予備実験を行うために、結晶化プレートを持続するための簡易型ホルダーを作製し、結晶化プレートにはX線の散乱・吸収の少ないGreiner社製の結晶化プレートを使用した。15 μm 程度の卵白リゾチーム結晶に適用したところ、2 Å分解能の回折反射を示す回折像が得られた。この結果に基づいて、簡易型ホルダーをベースにXYZ-3軸の自動並進軸をもつ装置の設計・製作を進めている。また、ビームラインの測定ソフトBBSに、この機能の実装を進め、任意のウェルにX線を照射し、試料の評価を行う仕組みを構築中である。

3. ビームライン調整の自動化

BL41XUでは、大きな波長を行う際にビーム位置が試料位置で最大200 μm 程度変位する。この変位に追従して最小10 μm のビームを試料に確実に照射するために、波長ごとに実験定盤の位置やスリット位置を保持したテーブルを作成し、これを参照して随時補正を行っている。このテーブルはサイクルごとに取り直しているが、その作業は煩雑で時間が掛かる。そこで、ビーム調整の簡略化とビームタイムの有効活用のために、ビームライン調整用ソフトウェアの開発を行った。

このソフトウェアは、ビームライン機器制御を行うMADOKAシステムや蛍光板と同軸カメラによるビーム位置モニタを利用し、駆動軸の制御、ビーム強度走査、ビーム位置確認などを行う。ビーム位置モニタの画像の自動処理や、駆動軸スキャンで得られた強度プロファイルの自動解析を行うことができるため、実行中はスタッフの立ち会いは不要である。また、ひとかたまりの作業を1つのジョブとして扱うことが大きな特徴であり、各ジョブをスケジュール管理し連続動作させることで、複雑なビームライン調整の自動化を可能にしている。各ジョブの追加・削除・順序の入れ替え等の編集作業はGUI及びテキスト形式で簡単に行うことができる。

このソフトウェアの導入により、テーブル取得に要する時間が半減したばかりでなく、夜中の自動処理も可能になったことから、ビームタイム調整時間を有効に利用できるようになった。今後は、エラー処理や対応作業の追加を進める。

4. 微小結晶マウント法の開発

微小結晶の測定に、内径10～100 μm 程度の微細なガラスキャピラリを試料マウントに用いることを試みた^[1]。肉薄のためにX線散乱も少なく、操作中の溶媒の蒸散も抑えられ、10 μm 程度の試料の操作に適していることが明らかとなった。現在、さらにSPACE pinとの組み合わせに

よるガス加圧実験システムを構築中である。

参考文献

- [1] Makino, M. et al.: *J. Appl. Cryst.* **45** (2012) 785-8.

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、奥村 英夫、水野 伸宏

馬場 清喜、宮野 菜央、熊坂 崇