

## 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タンパク質結晶構造解析ビームライン（MXビームライン）である。高フラックスビームを利用して回折データ測定を行えることから、主として膜タンパク質・超分子複合体など、良質な結晶を得ることが困難な高難度試料の構造決定に利用されている。また、アンジュレータを光源とする唯一の共用MXビームラインであり、海外の研究グループ・製薬会社などを含む幅広いユーザーに利用されている。

2013年度は、既存設備の性能と使い勝手の向上を目的とした新しいピンホールコリメータシステムの導入とプレートスキャン装置の開発に加え、2014年度からの運用予定の新しい集光光学系・回折計・検出器の導入を行った。この他、精密空調・ヘリウムガス供給設備などビームラインのユーティリティ設備の整備も進めた。

### 1. 新しいピンホールコリメータシステムの導入

BL41XUではKBミラーを用いて縦横のビーム集光を行っている。この集光で得られる試料位置でのビームサイズは80.2  $\mu\text{m}$  (水平)  $\times$  22  $\mu\text{m}$  (垂直) (FWHM) であり、そのままでは数 $\mu\text{m}$ ～数十 $\mu\text{m}$ 程度の微小結晶からS/N比の良い回折データ測定を行うことが困難である。そのため、試料直前にピンホールコリメータを設置し、最小10  $\mu\text{m}$ の微小ビームを提供していた。2012年度まで使用していたピンホールコリメータは、ピンホール部と寄生散乱の広がりを抑制するガードパイプが一体となった形状をしてい

ることに起因し、回折データの低角分解能が低く、バックグラウンドが高いという問題があった。また、ピンホールの調整に時間がかかるほか、ユーザービームタイム中に破損事故が起きることも数回あった。

そこで、これらの問題を解決するため、2012年度の冬期点検調整期間中にピンホールユニット部とガードパイプ部を切り離した新しいコリメータシステムを導入した(図1)。ピンホールユニット部は、タンタル製のピンホールと、それを挟み込んで固定するカバー部、および、ベース板から形成される。様々なサイズの測定試料に対応するため、直径10, 20, 30, 50  $\mu\text{m}$ の4種類のピンホールを装填した。ガードパイプ部は、長さが30 mmで、その先端に直径100  $\mu\text{m}$ のピンホールが取り付けられている。ピンホールユニット部、ガードパイプ部にそれぞれ縦横の2軸自動ステージが付いており、データ測定ソフトウェアBSS<sup>[1]</sup>の環境ファイルに退避位置と光軸上に挿入した時の座標を設定しておくことでビームサイズ変更やピンホールコリメータの出し入れを実現している。

この新しいコリメータシステムは、2013A期立ち上げ時にコミショニングを行い運用を開始した。図2は利用可能なビーム形状と強度である。その後、2014年1～3月に回折計の入れ替えを行ったため、利用は2013B期までで終了した。しかし、コリメータ調整の簡素化、ビームサイズの切り替え速度の向上、バックグラウンドの低減、低角分解能の向上など数多くの効果があり、導入のメリットは非常に大きかった。

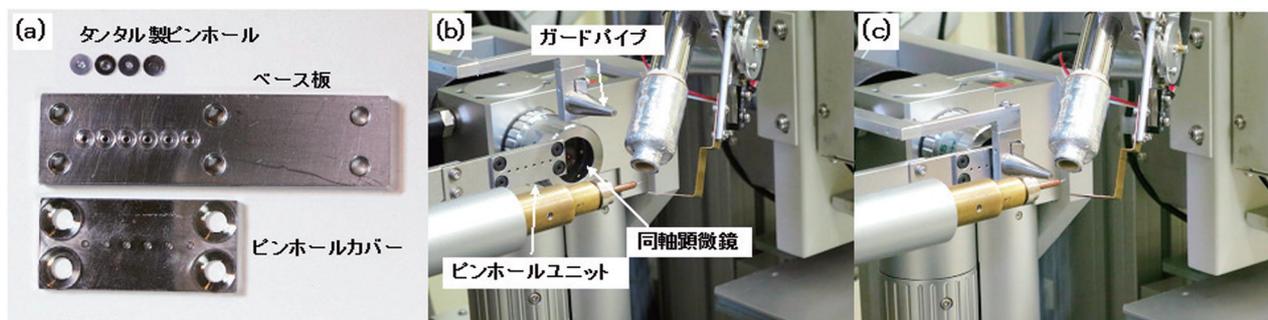


図1 新しいピンホールコリメータシステムの写真

(a)ピンホールユニット部の構成、(b)同軸顕微鏡で試料観察する時の写真。視野を遮らないようにピンホールユニット・ガードパイプが退避している。(c)測定時の写真

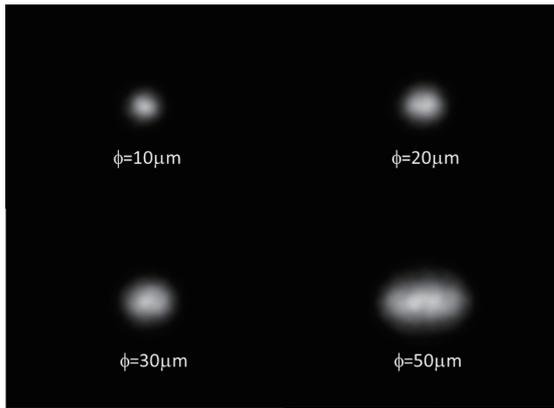
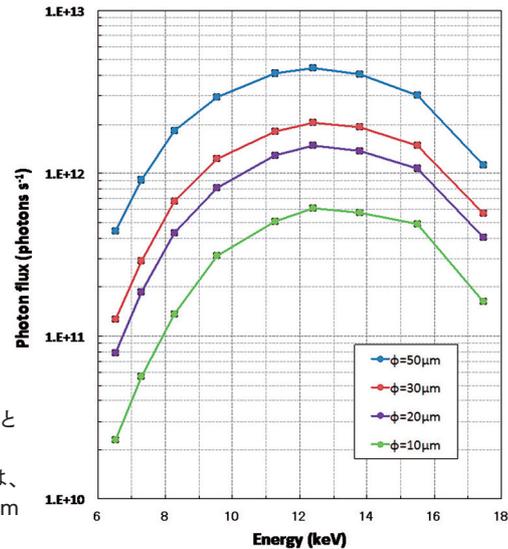


図2 新しいピンホールコリメータで得られるビーム形状(左)とビーム強度(右)

左図中の数字はピンホールの直径を示す。各ビームのサイズは、小さい方から  $15.1 \mu\text{m} \times 13.6 \mu\text{m}$ ,  $21.2 \mu\text{m} \times 17.3 \mu\text{m}$ ,  $24.9 \mu\text{m} \times 18.4 \mu\text{m}$ ,  $44.5 \mu\text{m} \times 21.4 \mu\text{m}$  (FWHM, H × V) である。



## 2. プレートスクリーニング装置の開発

高難度試料の構造解析においてX線を用いた結晶の評価は重要である。そこで、放射光を用いた試料評価を迅速に行い、結晶化実験やクライオ条件探索へフィードバックすることを目的として、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。2012年度までにXYZ-3軸の自動並進軸をもつ本装置を作成した。LSP法で析出させた視認不可能な結晶を用いたテストでは  $3.4 \text{ \AA}$  の分解能まで回折斑点を観察することができ、結晶スクリーニングに利用できることを示した。2013年度は本装置をユーザー利用に提供するため、データ測定ソフトウェアBSS<sup>[1]</sup>に本装置の制御ルーチンを実装した。これを用いると、GUIから標的ウェルのIDを入力すると自動的に同軸顕微鏡の視野に入るように移動させることができ、さらに、同軸顕微鏡画像をマウスクリックして位置の微調を行える。位置調整後はラスタースキャンによる回折画像の取得ができる。BSSの環境設定ファイルでウェルの座標情報を定義さえすれば、任意の結晶化プレートで利用可能である。

その一方で本装置の設置の迅速化・簡素化を図るため、本装置と干渉していたゴニオメータスピンドル軸の軸棒を改良し、先端から200 mmまでの部分を容易に着脱可能なようにした。これにより、設置および撤去作業をそれぞれ30分以内に行うことが可能となった。

## 3. 光学系・回折計・検出器の高度化

近年、ビームラインに持ち込まれる試料の高難度化がますます進んでいる。このような試料から高精度かつ迅速に構造決定を行うためには、ビームの微小化に

よる測定対象の拡大、高フラックス化による高精度化、そして、高速検出器による迅速測定の実現が必要であった。そこで、2011年より抜本的な高度化の準備を進め、2014年1～3月の冬期点検調整期間を利用して集光光学系・回折計・検出器の入れ替えを行った。

新しい集光光学系は、第1水平集光ミラーとKBミラーを組み合わせた2段集光光学系を利用している。3枚のミラーは何れも曲率固定のEEMミラー<sup>[2]</sup>を使用しており、ビームサイズの変更は、仮想光源のサイズ変更・試料位置のデフォーカス点への移動・縦集光ミラーの角度変更を組み合わせで行う。レイトールースの結果では、最小ビームサイズが  $10 \mu\text{m}(V) \times 5 \mu\text{m}(H)$  で、強度が  $1.2 \times 10^{13}$  (photons/s) である。最大ビームサイズは  $50 \mu\text{m}(V) \times 50 \mu\text{m}(H)$  で、強度  $5.4 \times 10^{13}$  (photons/s) と計算されている。2014年1月末から光学コンポーネントの分解を開始し、2月末までに新しいコンポーネントを配置した(図3)。KBミラーは、振動対策のための床面補強工事を1月から2月にかけて行った後、3月に設置とオフライン調整を行った。

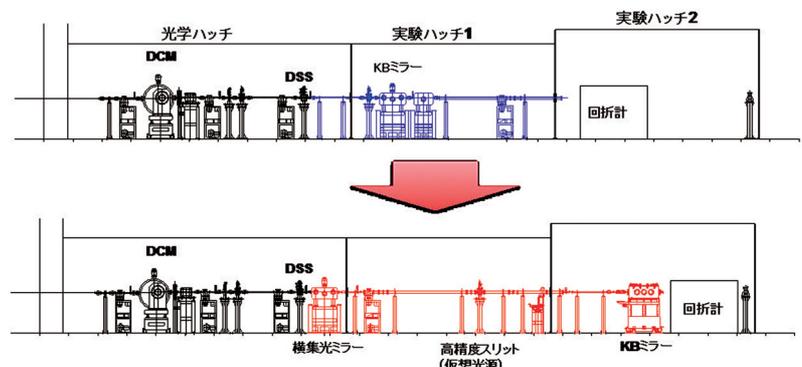


図3 集光光学系のスクラップ・アンド・ビルド  
(上)古いビームラインレイアウト、(下)新しいビームラインレイアウト、青で示したコンポーネントを赤で示すコンポーネントに改造した。

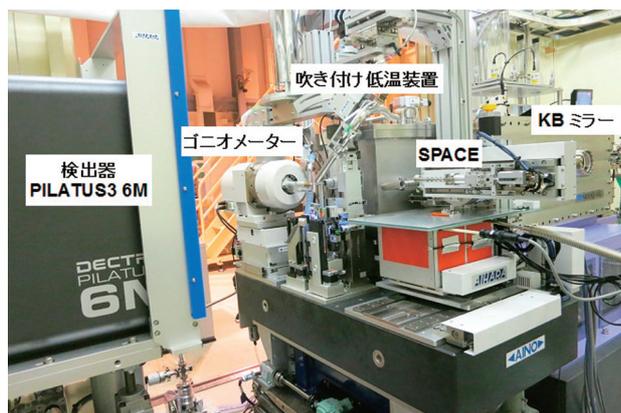


図4 回折計・検出器の高度化

図4は、新しく導入した回折計の写真である。ビームの微小化にともない、振動が回折データ精度に与える影響がより深刻になることから、回折計は安定な石定盤上に設置している。回折計定盤の定盤面は、試料をデフォーカス位置へ並進させるため光軸に沿って-10～60 mmの可動範囲を持つ。この動きに追従するため、吹き付け低温装置ノズル部は回折定盤上にクランプし、また、サンプルチェンジャーSPACEも定盤上に設置している。サンプルチェンジャーSPACEは、大容量の最新モデルに置き換え、UniPuckカセットをこれまでの倍の4個設置することが可能になった。これに加え、マウント動作を高速化するため、マウントアームの回転軸・並進軸の駆動の高速化も図った。いずれも、測定の高スループット化に対応するための処置である。

新しい検出器は、DECTRIS社製のPILATUS3 6Mである。最高フレームレート100 frame/s、デッドタイム0.95 msで読み取り可能である。3月上旬に回折計上に設置し、チェックソース (Fe<sup>55</sup>) を用いてオフラインのコミッションングを行った。これに合わせて、制御・情報

部門で開発されたBlanc8を用いて検出器と回折計の同期制御系を構築し、最高100 frame/sでの高速データ測定や高速ラスタスキャンを行う環境を整えた。

本高度化後のX線を用いたコミッションングは、2014A期の最初に延べ3週間のビームタイムを用いて行う。その後、2014年5月中旬よりユーザー利用開始の予定である。また、20.6 keV～35.4 keV (波長0.35 Å～0.6 Å) の高エネルギーX線を用いたデータ測定を行うため、2014年度中に実験ハッチ1にもう一つの回折計を設置する計画も進めている。

#### 4. ビームラインのユーティリティ設備の整備

高度化により性能が向上したビームを安定に利用すること、およびビームライン運用の利便性の向上を目的として、空調設備などのユーティリティの整備を進めた (図5)。

3項で述べた集光光学系高度化にともない、これまでよりも小さいサイズのビームを利用できるようになるため、温度変化に伴う光学素子・回折計の変位の抑制がこれまでより重要になる。そこで、KBミラーおよび回折計周辺・検出器をブースで囲い、その中に±0.1°Cの精度で温調された気流を送り込む精密空調設備を導入した。一方、実験ハッチ1には、2014年度に回折計とその制御系を設置する予定であり、これらの機器から放出される熱を排熱することを目的として空調設備を設置した。

また、上述の精密空調設備の導入にともない、実験ハッチ2のL3系冷却水の増強が必要になったことから冷却水供給配管の整備も行った。2012年度に、分光器の液体窒



図5 ビームラインユーティリティ設備の整備

素循環装置のためにL3系冷却水を増設し、ビームライン全体で50～100 L/minの利用が可能であった。そこで、ビームライン上流のラチェット部の本管から分岐し、光学ハッチ・実験ハッチ1, 2の屋上を経由して、実験ハッチ2の手動扉脇まで新たな冷却水配管を通した。この経路の途中の実験ハッチ2の屋上部に取り出し口を設け、今後の機器増設により需要が増えた場合に対応できるようにした。

BL41XUで行う回折実験では、ビームパスのヘリウム置換やヘリウム吹き付け低温装置利用のためにヘリウムガスを使用する。それぞれユーザー定額負担と利用料に応じた従量負担となっており、これまでは、これら2つの使用目的のために7000 Lのヘリウムポンペをそれぞれ2本と4本用意し別々に管理していたため、必ずしも効率的な運用ができていなかった。そこで、より効率的に管理運用すること、さらに、実験ハッチ1に新たにヘリウムを供給することを目的として、6本のヘリウムポンペを一括して運用するガス供給設備を整備した。この設備では6本のポンペを3本ずつ半自動切替器で切り替えて使用する。その先で定額分と従量分の2系統に分岐し、それぞれ実験ハッチ1, 2までSUS配管を敷設している。各ハッチには、ストップ弁、減圧バルブ、流量計から構成されるフロー制御盤を設置し、必要に応じて機器にヘリウムを供給できるようになっている。

この他、PILATUS3 6Mに乾燥ガス（窒素ガス）を供給するための設備の整備や、エアベアリングゴニオメータに圧縮ガスを供給するコンプレッサーのレシプロ型からスクロール型への置き換えも行った。

#### 参考文献

- [1] G. Ueno, *et al.*: *J. Synchrotron. Rad.* **12** (2005) 380-384.  
 [2] K. Yamauchi, *et al.*: *Jpn. J. Appl. Phys.* **42** (2003) 7129-7134.

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  
 テクニカルスタッフ

福居 知樹、早賀 紀久男

光源・光学系部門

仙波 泰徳、湯本 博勝  
 小山 貴久、大橋 治彦