

BL38B1 構造生物学Ⅲ

偏向電磁石を光源とするBL38B1では、安定性の高いビームを利用した効率的かつ高精度なタンパク質結晶回折データ測定環境の整備を中心に、試料の化学状態をモニターするオンライン顕微分光装置や生理条件での構造解析を可能にする室温測定環境など、多様な実験環境の提供と開発を行っている。

ユーザー実験の利便性や効率性を高めるため、2003年以来ユーザーフレンドリーなデータ測定ソフトウェアBSS^[1]、新型CCD検出器、大面積IP検出器の導入によりシステム構築を進めてきた。2005～2010年には自動サンプルチェンジャーSPACE^[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、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、メールイン測定システムを導入、さらにこれを発展させた遠隔実験システムの共用利用を開始した。2011～2013年には、大面積のCCD検出器の導入・改修と試料周りの高度化、集光系の改善による高集光化を行うとともに、ビームライン調整作業の効率化と自動化を目指し、BL調整ソフトウェアを開発した。さらに、微小結晶の回折測定を効率化するFine needle キャピラリーマウント法とこれを応用した希ガス誘導体結晶作成法の開発と、湿度調整と水溶性ポリマーを用いた室温および凍結条件での試料マウント手法の開発を行った。

2014年度は、より高精度な実験を可能とするため、回折計定盤を新設、高感度型CCD検出器を導入する高度化を実施した。また、試料位置直前に設置したピンホールでX線ビームを成形するビームサイズ可変機構、適切なビーム強度を選択可能にするアッテネータユニットを実装した。湿度調整と水溶性ポリマーを使用した結晶マウント法の開発については、2013年度に引き続き開発を行った。

1. より高精度な実験を可能とするための高度化

・回折計/検出器分離型定盤の導入

これまで、回折計上のスリット、イオンチャンバなどの配置の最適化、当グループで開発しているビーム自動調整ソフトウェアのパラメータの最適化を行ってきた。しかし、検出器定盤が回折計定盤と一体となっていることに起因する検出器移動時の定盤のたわみによる試料位置でのビームのずれ、および回折計の構造強度不足によるクライオ装置運転時のビーム振動が問題となっていた。

また、湿度調整と水溶性ポリマーを使用した結晶マウント法では、湿度調整した気流を試料に吹き付けるノズルを試料位置付近に新たに設置する必要があった。そこで、検出器定盤と分離した新たな回折計定盤を設計・製作して設置した。この新たな回折計定盤のクライオ支持部には石定盤を組み合わせ、振動対策を施した。また、検出器定盤を分離したため、検出器の傾きなどを独自に調整可能となり、検出器位置に関わらず検出器の中心にX線が通るように調整可能となった。さらに、検出器定盤の上流には一時的に他の検出器を設置できるような設計とし、X線トポグラフィー測定法の開発などがより効率的に行えるようになった。

・高感度型CCD検出器の導入

より高精度な実験を可能とするために、高感度型のCCD検出器MX225HE (Rayonix社)を導入した。検出器の面積は従来のQ315rよりも小さくなったが、試料-検出器間の最短距離を75 mmから55 mmへ短縮することで検出可能な最大分解能0.75 Å ($\lambda = 0.8 \text{ \AA}$)を維持した。

・多段階X線減衰用アッテネータユニットの導入

既設のX線減衰用アッテネータユニットは、選択可能な減衰率が限られており (Al厚を50 μm 刻みで設定)、波長1.5 Åを超えるような長波長側では選択可能な減衰率の間隔が開きすぎて、適切な減衰率を選択できなかった。そこで、新たに3連の省スペース型アッテネータユニットを導入することで、長波長側でも適切な減衰率 (Al: 10 μm , 25～4000 μm 間で25 μm 刻みで設定) が選択可能になった。

・ビームサイズ可変機構の導入

試料位置で集光したビームサイズは $100 \times 200 \mu\text{m}^2$ (W × H)である。これまでに実施した高輝度化と低バックグラウンド化により、 $30 \times 30 \times 30 \mu\text{m}^3$ 以下の大きさの結晶でも回折実験が十分可能となった。そこで、さらに微小な試料に対応するために、試料観察用同軸カメラと試料の間にTa製ピンホールを設置し、ビーム形状を整形するビームサイズ可変機構を導入した。この機構で整形したX線のFlux Densityはビームサイズに関わらず 1×10^{12} photons/sec/mm²/100 mA ($\lambda = 1 \text{ \AA}$)以上であり、ユ

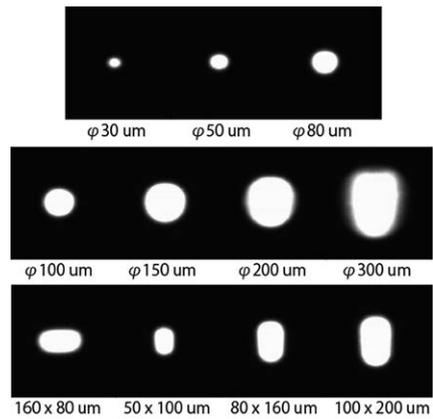


図1 回折計/検出器分離型定盤とビームサイズ可変機構により整形した試料位置でのビーム形状

ユーザーはビームサイズを結晶に合わせて選択することで、試料に当たらない余分なX線由来のバックグラウンドを低減した高精度な実験を行うことが可能となった。また、大きな結晶においても質の良い部分のみにX線を照射することが可能となった。

2. 水溶性高分子と湿度調整を用いたマウント手法の開発

・様々な試料への対応

現在、水溶性高分子と湿度調整を用いたマウント手法 (Humid Air and Glue coating; HAG) [3] で使用する湿度調整装置は、室温でのみ動作する。しかし、結晶化は4°Cなどの低温で行われる場合があり、室温では結晶が劣化し条件の最適化ができないケースもみられた。そこで現行機種を改造し低温に対応させる試験を行い、4°Cまで温度を下げることに成功した。今後さらに高度化を進める。また同様に、結晶化温度と異なる温度で結晶のマウント操作などを行うと結晶の質が劣化する事例が度々見られている。したがって、低温での調湿実験を行うためには低温に対応した結晶ハンドリングBOXが必要であり、その開発を進めている。現在、4°Cでの調湿が可能で試作機が完成した。今後、断熱効率や実験の操作性を高めるための改良を進める。

・湿度調整装置の長時間連続稼働への対応

試験運転の結果、本装置で可能な連続運転時間は20時間未満であった。3シフト以上(24時間以上)での運用に対応するため、貯水タンクの大容量化にあわせ、温度、湿度共に記録可能な新型の調湿装置を導入した。現在、運用に向けてテストを進めている。

参考文献

- [1] G. Ueno, *et al.*: *J. Synchrotron Rad.* **12** (2005) 380-384.
- [2] G. Ueno, *et al.*: *J. Appl. Cryst.* **37** (2004) 867-873.
- [3] S. Baba *et al.*: *Acta Cryst.*, **D69** (2013) 1839-1849.

タンパク質結晶解析推進室

タンパク質構造解析促進グループ

測定技術開発チーム

馬場 清喜、水野 伸宏、Nipawan Nuemket
長谷川 和也、奥村 英夫、山本 雅貴、熊坂 崇

テクニカルスタッフ

福居 知樹、早賀 紀久男

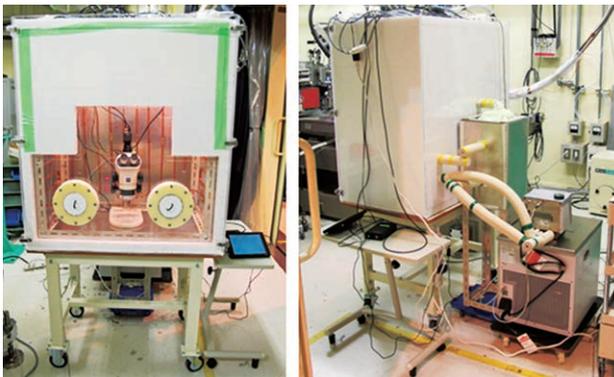


図2 低温対応結晶ハンドリングBOX