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。本ビームラインでは2013年 ~ 2014年にかけて6.5 keV ~ 17.7 keV を利用する通常 モードの集光光学系・回折計を入れ替える大がかりな改 造を行った。この高度化が一段落した2015年度は、20 ~35 keVのX線を利用する高エネルギーモードについ て集光光学系・回折計・検出器の立ち上げを行った。こ の他、通常モード用のサンプルチェンジャーの改造とゴ ニオメータの更新も行った。

1. 高エネルギーモードの構築

BL41XUでは主としてエネルギー領域6.5 keV ~ 17.7 keVを利用した回折実験が行われている(通常モード)。その一方で、20 keV以上のX線を利用した回折デ ータ測定は、水素を可視化する超高分解能データ測定や、 この波長域に吸収端をもつ核種の位置の同定、そして、

それらを利用した位相決定を目的として一定のニーズが ある。そのため、これまでBL41XUでは20~35 keVの 高エネルギーX線を用いた回折データ測定環境を運用し てきた。2013B期以前は、2つのモードで共通の集光光 学系・回折計を利用していたため、モード変更時は集光 ミラーの角度を変更しその光軸に追従させるために回折 計を縦横に約30 mm動かすという大がかりなセッティン グ変更を行っていた。それに対して、2015年度に行った 高エネルギーモードの立ち上げでは、各モードに最適化 した集光光学系・回折計を利用することと、モード切り 替え時のセッティング変更を極力少なくするために、高 エネルギーモード専用の環境を実験ハッチ1内に整備し た(図1)。通常モード利用時は、光軸上に高真空ビーム パイプが設置されているが、高エネルギーモードへの切 替の際にはビームパイプを取り外し光軸から待避してい た回折計を光軸上に移動する。やや大がかりではあるも のの、高エネルギーモード用回折計の位置再現性は高く、 また、第1集光ミラーを退避する以外は通常モードのセ ッティングに変更がないことから、モード切替後のビー ムアライメントは簡便である。

この新しい高エネルギーモードでは、集光素子とし て複合屈折レンズ (Compound Refractive Lens (CRL) カールスルーエ技術研究所・IMT製)を使用している。



図1 ビームラインのレイアウト

通常モードは実験ハッチ2で、高エネルギーモードは実験ハッチ1で実験を行う。通常モードの集光は、光学ハッチに設置した水平 ミラーと実験ハッチ2に設置したKBミラーから構成される2段集光光学系を用いている。高エネルギーモードでは、回折計上の真空チャ ンバー内に設置した屈折レンズで集光を行う。



図2 複合屈折レンズ(CRL)の写真。 シリコンの基板に3本のレンズが取り付けられている。



図3 屈折レンズ架台(a)と屈折レンズを設置した入射系チャン バー(b)

20~35 keVのエネルギー領域をカバーするため、 20 keV・25 keV・30 keV用の3本のCRLを導入した。 これらは、シリコンの基板上に取り付けられている。各 レンズの方位と位置を調整するために、回転2軸、並進 2軸の自動ステージから構成される専用の架台を製作し (図3a)、シャッター等を収納している入射器系真空チャ ンバー内に設置している (図3b)。屈折レンズの下流側 には強度モニタを設置しており、各軸を順番にスキャン することでレンズのアライメントを行う。

図4は、試料位置から1065 mmに屈折レンズ設置し



図5 高エネルギーモード用検出器C10158DK-11(X) (浜松ホトニクス社製)

たときのビームプロファイルである。20 keV, 25 keV, 30 keVのビームサイズはそれぞれ11(H) × 2(V) μm^2 、 12(H) × 4(V) μm^2 、12(H) × 3(V) μm^2 (FWHM)であった。 このときのビーム強度はそれぞれ1.4×10¹², 1.0×10¹², 6.7×10¹¹ (photons/s)であり、微小結晶からのデータ測 定が十分可能なビーム性能である。その一方で、高エネ ルギーモードでは数百 μm 程度の大きな結晶の利用も想 定される。そこで、屈折レンズを300 mm下流に移動し ビームをデフォーカスさせたところ30 keVで47(H) × 44(V) μm^2 (FWHM)のビームが得られた。

高エネルギーモード利用の際の問題の一つは検出器の 感度である。2013B期までは12.4 keV付近に最適化さ れた蛍光体をもつCCD検出器MX225E (Rayonix社製) を用いていた。これに対して、高度化後は蛍光体の厚さ を150 µmから300 µmに増やしたCMOSフラットパネ ルを新たに導入した (図5)。まだ予備的な実験結果では あるが、従来のCCD検出器とくらべて1/10程度の露光 時間で同等のSNのデータが得られるという結果を得て いる。



図4 屈折レンズによる集光ビームのプロファイル



図6 ストレージ部を大容量化したSPACE(左)とストレージ部の図面(右) ストレージ部の機構を並進2軸から、回転と並進の2軸へ変更することにより、周辺の他の機器に干渉することなく、サンプル容器 が最大8個搭載可能になった。

2. サンプルチェンジャーの高度化

2014年度の高度化以降、通常モードでは原則として全 ユーザーがサンプルチェンジャー SPACE (Murakami et al.: 2012) を用いて試料交換を行っている。しかしなが ら、サンプルストレージ部に収納できるサンプルカセッ ト数は4個(カセット1個あたり16サンプルを充填可能) であり、1シフトのビームタイムであっても途中で試料 の交換を行うことがあった。そこでストレージ部の改造 を行い、カセットの搭載個数を最大4個から8個にした。 従来はストレージ部に2×2のマトリックス状にカセット を配置してX(光軸)方向,Y(光軸に垂直)方向2つの自 動並進軸で試料の位置を調整していた。大容量化にあた ってはできるだけコンパクトにカセットを収納すること と駆動方式の簡素化を念頭に設計を見直し、最終的に円 盤の円周部に沿って8個のカセットを配置し回転軸と並 進軸を組み合わせて位置合わせを行う方式を採用した(図 6)。また、この改造に合わせて、マウントアームの並進 軸の駆動の高速化を行い試料交換の高速化を図った。

高度化後のSPACEは2015年9月よりユーザー利用に



図7 直動型ゴニオメータ

提供しているが、多くのユーザーはビームタイムの最初 にカセットを装填すれば実験終了まで交換の必要がなく なっている。また、トラブルは2ヶ月に一度あるかどう かの程度であり安定性も非常に高い。

3. ゴニオメータ高度化

BL41XUでは2008年よりエアベアリング方式の低偏 芯ゴニオメータを利用してきた。しかし、2013年度より 最高速度で回転した際にサーボモータのエラーがたびた び発生するようになり、やむをえず速度を半分に減速し て運用していた。そこで、2015年度は直動型モーター を利用した低偏芯ゴニオメータを導入した(図7)。新し いゴニオメータの性能は、偏心精度は従来と同程度(<1 µm)であるが、最高回転速度についてはこれまでの2倍 の360°/sである。また、これにともないエアコンプレッ サーや圧力調整ユニットなどの周辺機器が必要なくなり 維持管理も容易になった。

なお本高度化の一部は、文部科学省「創薬等支援技術 基盤プラットフォーム」の助成を受けて行われた。

タンパク質結晶解析推進室

長谷川	和也、	奥村	英夫、	村上	博則
馬場	清喜、	水野	伸宏、	仲村	勇樹
Nipawan Nuemket、		尾﨑	愛美、	津田	奈美
	熊坊	え 崇、	八木	直人	

利用研究促進部門

技術支援グループ

福居 知樹、早賀 紀久男、入江 崇起