

BL44XU

大阪大学蛋白質研究所 (生体超分子複合体構造解析)

1. はじめに

生体超分子構造解析ビームライン (BL44XU) は、生体内の組織化された機能を理解するために、多様な機構で反応系を制御している生体超分子複合体の立体構造を X 線結晶構造解析法により解明することを目的として、大阪大学蛋白質研究所が中心となって建設を進めてきた。本ビームラインは、学術振興会未来開拓事業、科学技術振興事業団および文部省補正予算より援助を受けて、平成8年度から建設を始め、平成11年秋から正式に利用を開始した。

2. ビームラインの概要

SPring-8標準型のアンジュレータ (真空封止式) を光源としたアンジュレータ光を、光学ハッチ内に設置した回転傾斜型二結晶モノクロメータで単色化して実験ハッチに導入している。実験ハッチ内には水平集光型のロジウムコートミラーが設置してあり、高調波の除去と水平方向の集光を行うことができる。

試料位置でのビームサイズは、試料直前に置かれたダブルピンホール式のコリメータによって決められる。このコリメータは、種々のサンプルと実験に対応するために、0.5 ~ 0.02mm までの数種類の大きさのもの準備している。ビーム強度およびサンプルの大きさから、現在は 0.07mm のものを利用することが多い。

サンプルは水平および垂直式の独立した 2 軸を持つゴニオメータに取り付ける。検出器は、210 × 210mm² の有効面積を持つ 3 × 3 アレイ式 CCD 検出器 (Oxford Instruments 社 PX210) または、直径 400mm の有効面積を持つイメージングプレート検出器 (マックサイエンス社 DIP2040) のいずれかを利用することができる。これらの検出器は、簡単に (10分程度で) 交換できるので、実験に合わせた検出器を利用することができる。一般的には、通常のタンパク質の回折強度データ収集には PX210 が、格子定数の大きな生体超分子複合体の高分解能の回折強度デー

タ収集には DIP2040 が利用される。

3. ビームラインの現状

通常は 0.9 の単色 X 線を用いて実験を行っているが、この時のサンプル位置でのビームサイズ (FWHM) および Photon Flux はおおそそれぞれ 1.0mm (W) × 0.7mm (H)、 10^{13} photon/sec であり、ミラーにより、横方向のビームサイズを 0.07mm 程度まで集光することができる。この時、0.07mm のコリメータ後での Photon Flux は 10^{12} photons/sec 程度である。

微小な生体超分子複合体結晶のデータ収集を精度良く行うためには、精度の高いゴニオメータを利用する必要がある。本ビームラインには、水平式および垂直式の独立した 2 軸のゴニオメータを設置してある。通常の実験では偏光因子の関係で水平式のゴニオメータを利用するが、結晶を結晶化母液から取り出すことのできないウイルス結晶等のデータ収集には垂直式のゴニオメータを利用することができる。水平式ゴニオメータの場合、偏心の精度は数ミクロン以下であり、現時点での実験には十分に満足できる精度が得られている。

イメージングプレート検出器 DIP2040 は、1 時間あたり 13 フレーム以上のデータを定常的に収集可能である。本装置の位置分解能は、通常のイメージングプレートと同程度であり、結晶 - 検出器間の距離を変えることにより、格子定数が 1000 を越えるサンプルのデータ収集が可能である。実際に、2 軸が 600 を越える格子定数を持つ結晶に関しては、3.5 分解能以上の回折強度データを収集することに成功している。本検出器は、露光時間に比べて読み取りに時間がかかるという欠点を持っているが、格子定数の大きな生体超分子複合体の回折強度データ収集には不可欠な装置である。

CCD 検出器 PX210 は、読みだし時間が 2 秒、その他の処理を含めて、約 5 秒の間隔での読みだしが可能となってい

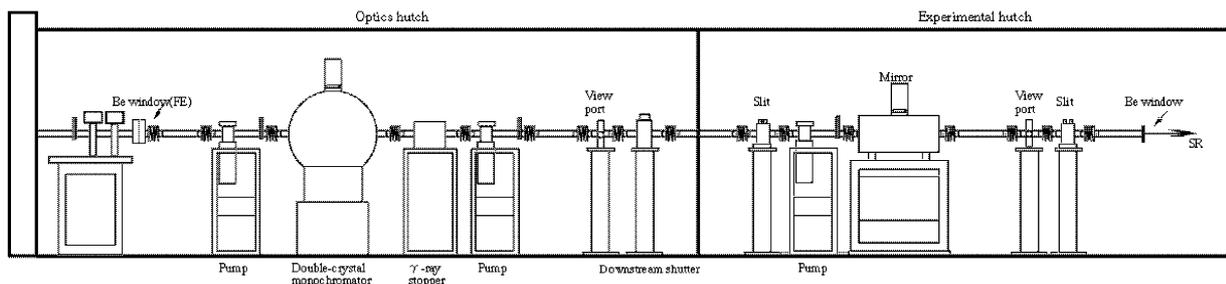


図1 ビームラインコンポーネントのレイアウト図

る。検出器の受光面の面積がDIP2040に比べて小さいという問題があるが、通常の実験はこちらが使われることがほとんどである。

構造解析を成功させるためには、データ収集中にその実験のフィードバックをかけることが必須である。そのために、大容量RAIDシステムと回折強度データ処理のためのワークステーションを設置した。現在、Linux workstation 5式と200+700GBのRAIDシステムが利用可能で、データ収集と平行してデータ処理やDDSおよびDTFといった磁気テープへのバックアップを行うことができる。

また、本ビームラインでは、回転傾斜型二結晶分光器を使用しているため、多波長異常分散法の実験も可能である。143残基のポリペプチド鎖からなるリボソーム蛋白質L13のセレノメチオニン置換体を用いた実験で、非常に良好な電子密度図が得られている(図2)。

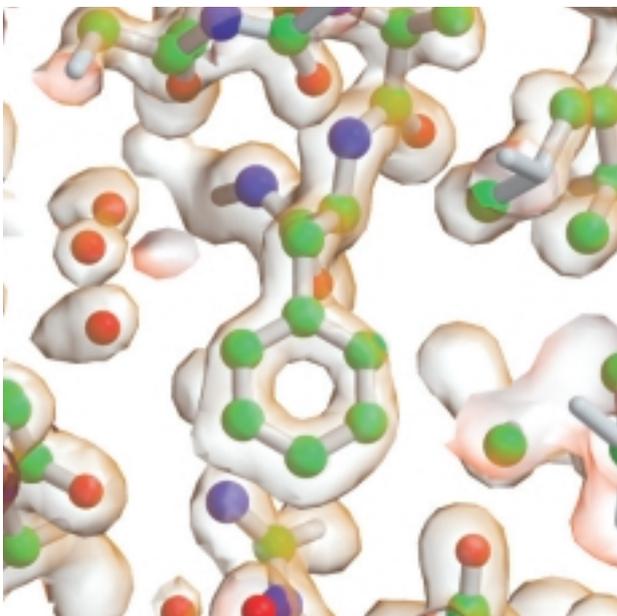


図2 多波長異常分散法により得られたL13の電子密度図

4. ウイルス結晶の回折実験

本ビームラインの重要な研究対象の1つに、ウイルス結晶の回折実験が挙げられる。ウイルスの飛散事故を防ぐために、ゴニオメータ周りの実験装置およびハッチ全体を管理区域に対応できるように、封じ込めレベルP2の安全設備を設置した(図3)。SPring-8内の安全審査等の手続きが済み次第、ウイルスの回折実験を行う予定である。

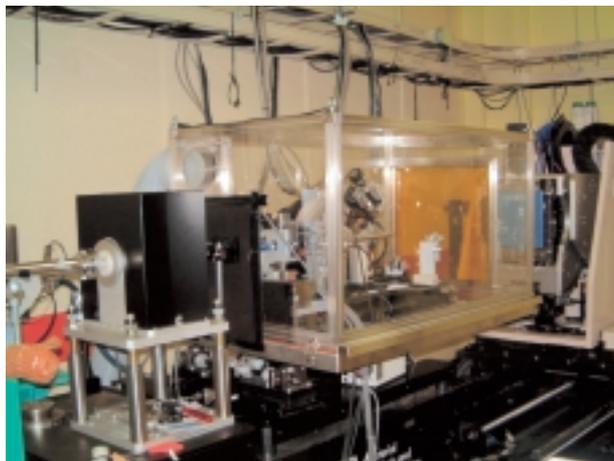


図3 ウイルス実験用安全キャビネット

5. 共同利用の現状

蛋白質研究所共同研究として全国の研究者からの共同利用実験を受け入れる体制を整えてきた。まず、平成11年5月の課題募集(試行)を行い、さらに平成12年1月の課題募集・課題採択を経て4月より共同利用実験を開始した。2000年度は133課題が有効となっている。

共同利用実験課題募集は年1回1月初旬に行われている。

(大阪大学 月原 富武、中川 敦史、山下 栄樹
理研 山本 雅貴)