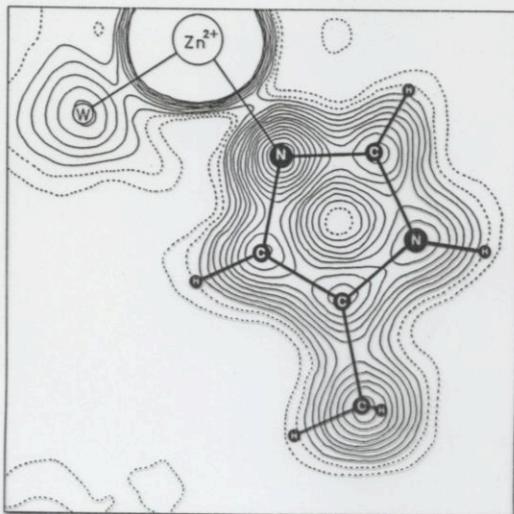


高精度高分解能データ尋求26年

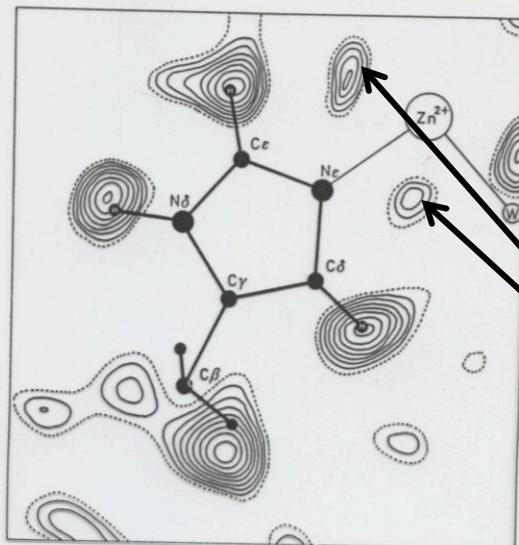
巨大分子用ワイセンベルグカメラ誕生の秘話
d電子で始まりd電子で終わる

平成22年7月12日

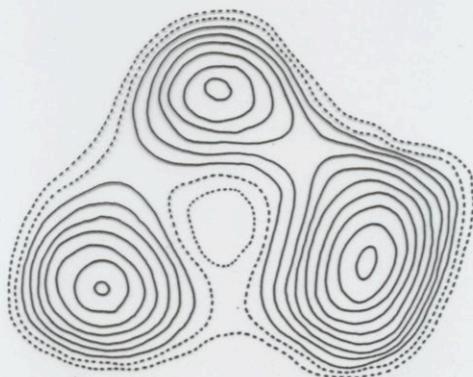
坂部知平



イミダゾール環
W；水分子



イミダゾール環の水素



メチル基の水素

蛋白質結晶中の水素原子
をX線解析で見た最初の例

亜鉛d電子の可能性を坂部貴和子
が指摘、その後、西オーストラリヤ、
パースのMaslen教授がd電子であ
ると指摘した。

Hilger & Watt 4-circle diffractometer
シールドチューブのX線発生装置を4°Cの
部屋に設置し、約3ヶ月掛かって
1.2Åのデータを収集
水素以外の占有率1の原子は異方
性温度因子を採用、R=0.11
約90%の水素原子を確認した。

回折強度データの精度を上げるには

1. 蛋白質結晶のX線による損傷を減らす。

精度の良いシンチレーションカウンターではなく2次元検出器。

IPは未開発; X線用写真フィルムが使用されていた。

2. 不完全反射に対する完全反射の割合を上げる。

ワイセンベルグカメラ方式を採用

多層線スクリーン またはスクリーンレス

3. 如何にしてS/Nを上げるか

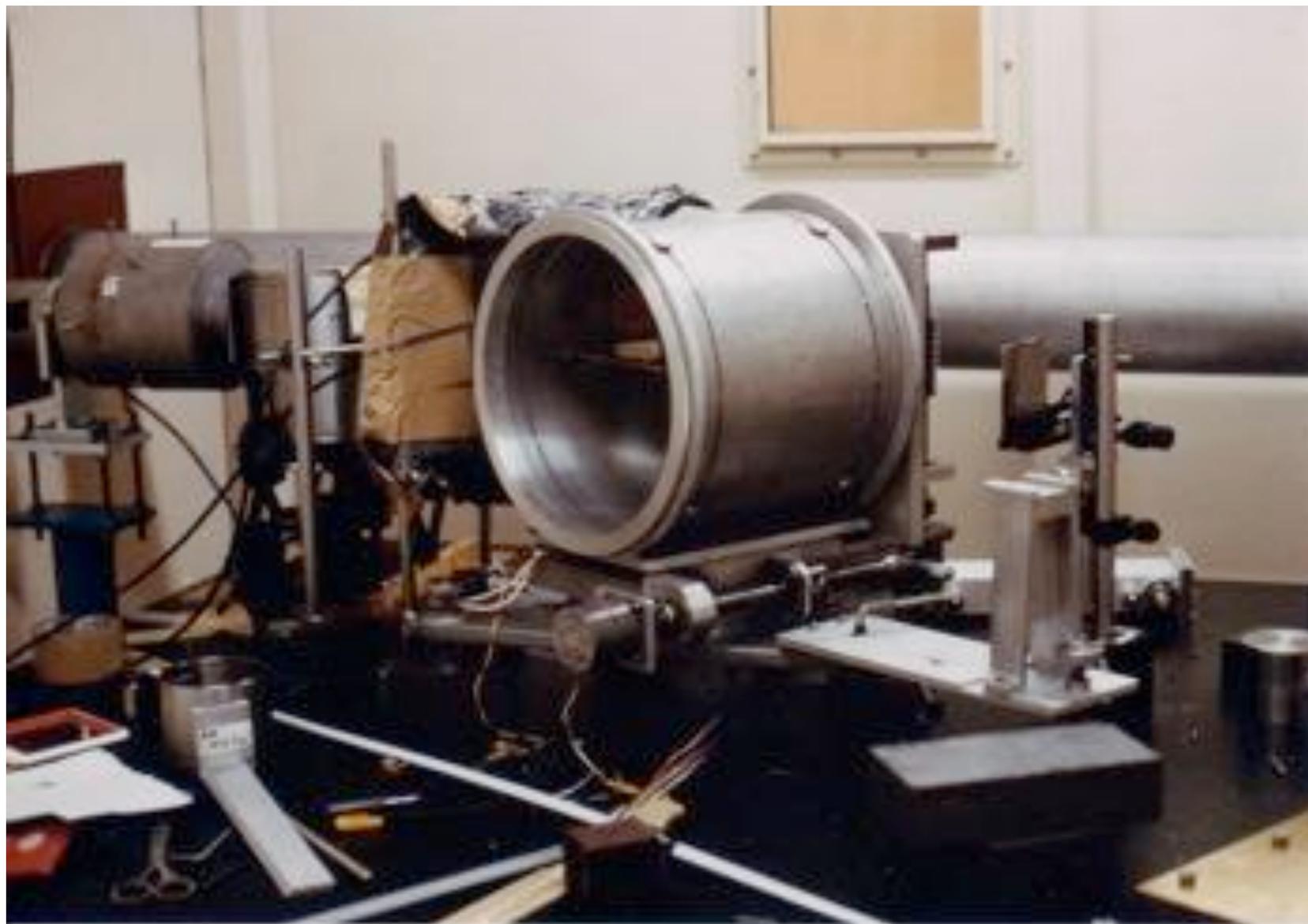
1) カセット半径を大きく: 試料からのノイズはほぼ半径の二乗に反比例 ($1/r^2$) するが回折ビームはあまり半径に依存しない。

従って、S/Nはほぼカメラ半径の二乗に比例する。

2) 空気散乱を減らす: 試料をヘリウムチェンバー中に置く

3) ビームサイズを小さくする。

多目的ビームラインBL4Aにて 中川敦史教授提供



微少点回転対陰極X線発生装置、ダブルベントLiFモノクロ

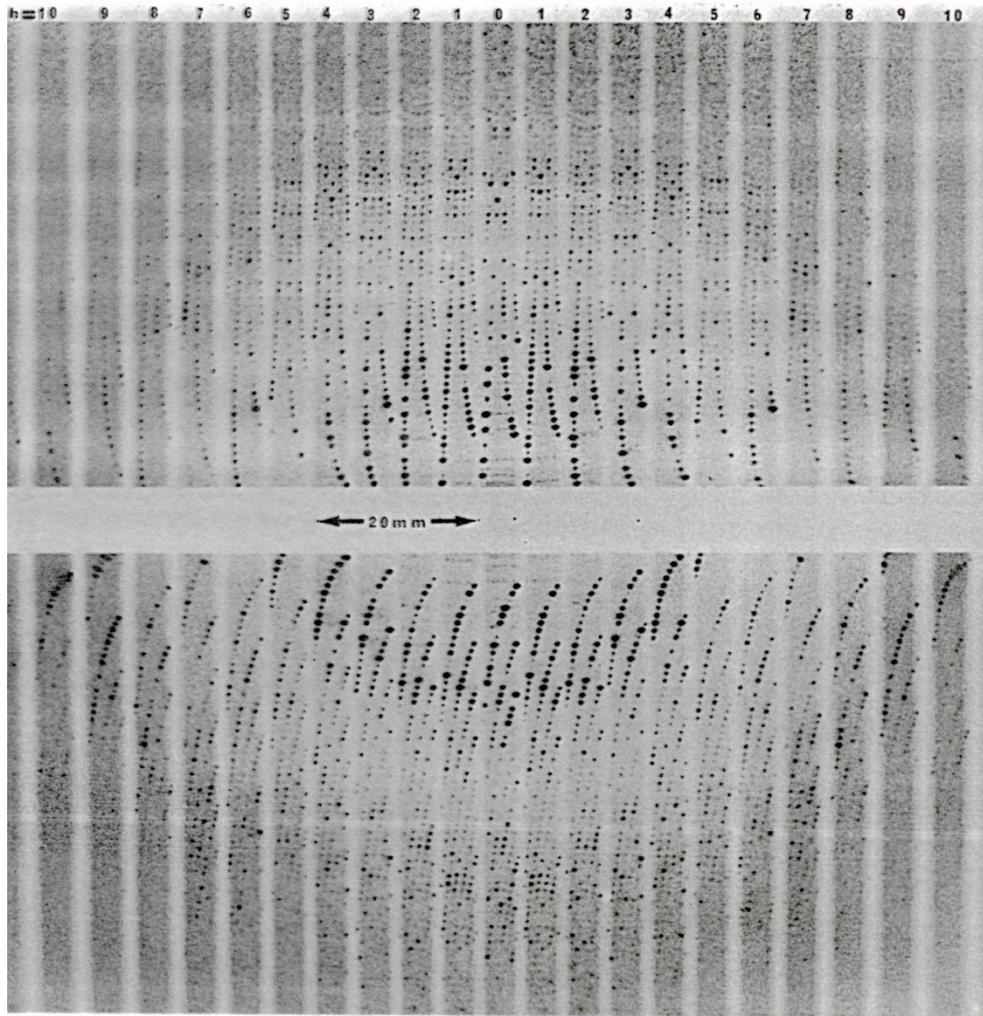


図 5. 回転対陰極X線発生装置より得られるX線により多層線スクリーン付きワイセンベルグカメラで撮影されたG-アクチン・DNase I複合体の回折写真。
半径が143.5 mmの円筒型フィルムカセットを使用、a軸振動(4°/mm)、振動角19°、 $\mu=0^\circ$ 、1往復18分、露光時間37時間、 $\lambda=1.54051 \text{ \AA}$ 。

実験室： 37h/19deg.=2h/deg.
PF-BL4A 3h/36deg.=5min/deg.

BL-4A 三角ベントSi-モノクロ

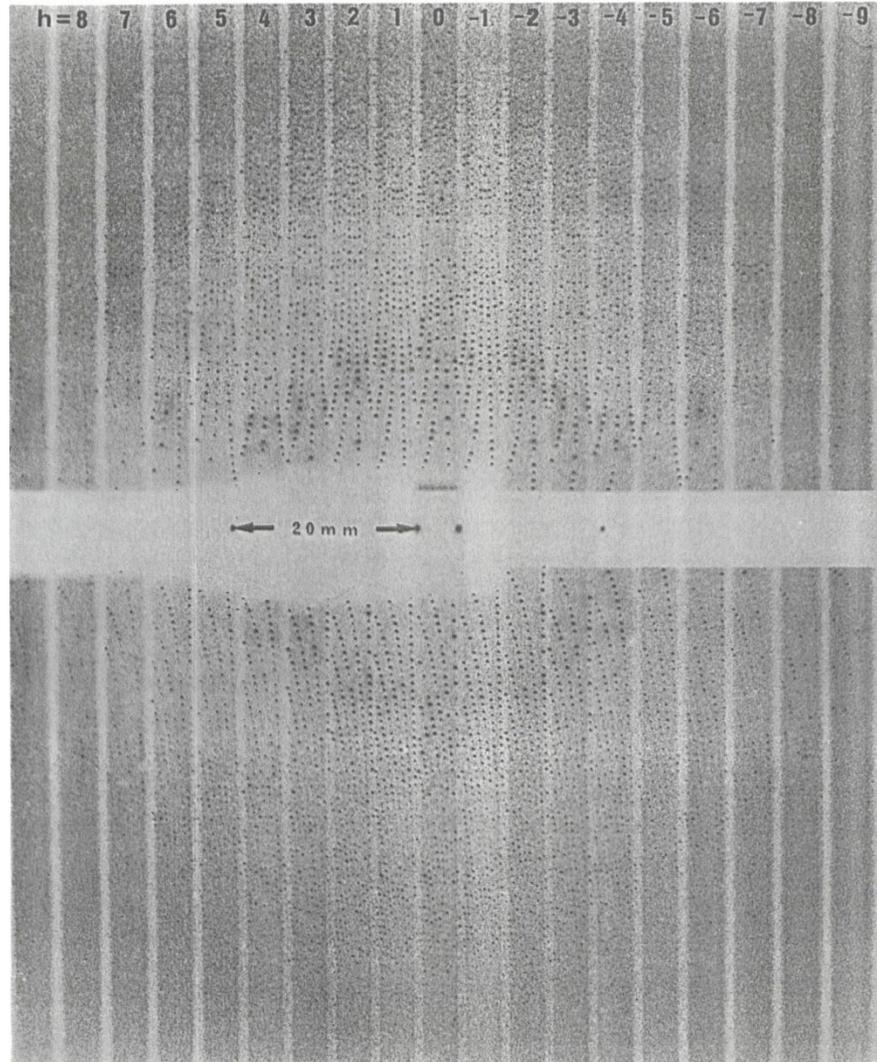


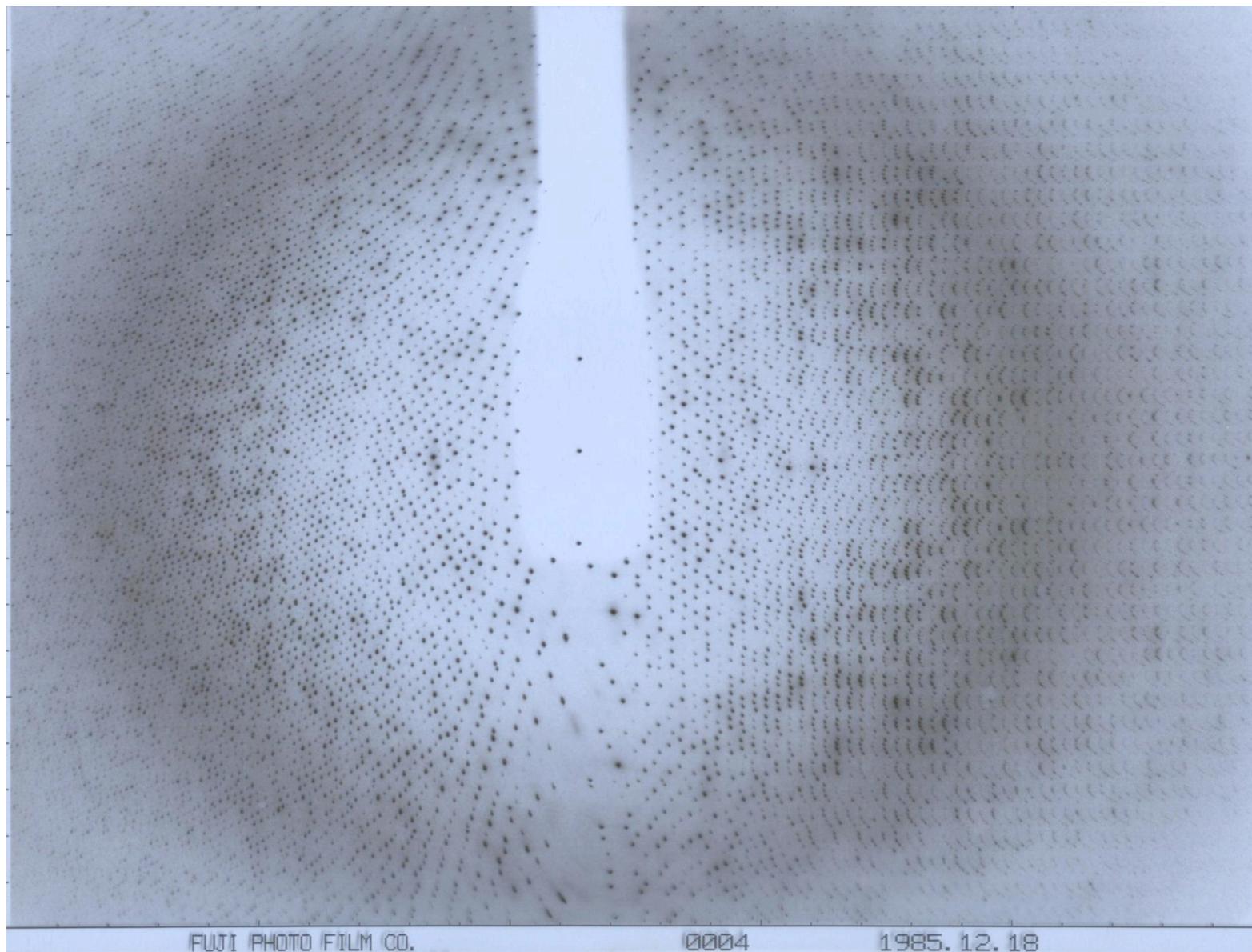
図 4. シンクロトロン放射X線により多層線スクリーン付きワイセンベルグカメラで撮影されたG-アクチン・DNase I複合体の回折写真。
半径143.5 mmの円筒型フィルムカセットを使用、a軸振動(8°/mm)、振動角36°、 $\mu=0^\circ$ 、1往復18分、露光時間180分、 $\lambda=1.38 \text{ \AA}$ 、PF 2.5 GeV、102~65 mA。

120min/5min=24倍強力
しかもシャープ！

世界初・蛋白質結晶へのIP応用実験

- 1985年7月に坂部知平はPFに着任し妻貴和子と共に研究及び共同利用の準備を開始した。間もなく、雨宮慶幸氏からIPを蛋白質結晶用検出器として使ってみないかと言われた。
- 1985年12月10日に10枚の消去済みIPを足柄にある富士フィルム宮ノ台研究所の宮原淳二氏から借り受けてとんぼ返りし、露光して直ぐ宮ノ台に引き返し読み取って戴いた。
- 検討の結果、読み取り装置が高価(当時は医療用に開発された装置のみ、1.5億円)なこと以外は**申し分のない検出器**であった。
- 1986年3月**渡邊**信久氏は名大理修士終了後、筑波大学博士課程(**福谷研**)に編入し、PFに来て私の手伝いを開始。**1989年理博**、4月より学振特別研究員、**1990年PF助手**。彼は共同利用者の世話のみならず装置や**ハッチの建設**など**ハード面**で活躍。
- 1986年4月1日、名大卒業後阪大理大学院に進学していた**中川**敦史氏がPFに助手として着任。彼は共同利用者の世話のみならずソフト面で大いに活躍。**安岡則武氏**
- データ処理プログラムの開発はワイセンベルグカメラ開発当初から東常行氏が担当し、(株)リガクに入社後も献身的に協力して下さった。

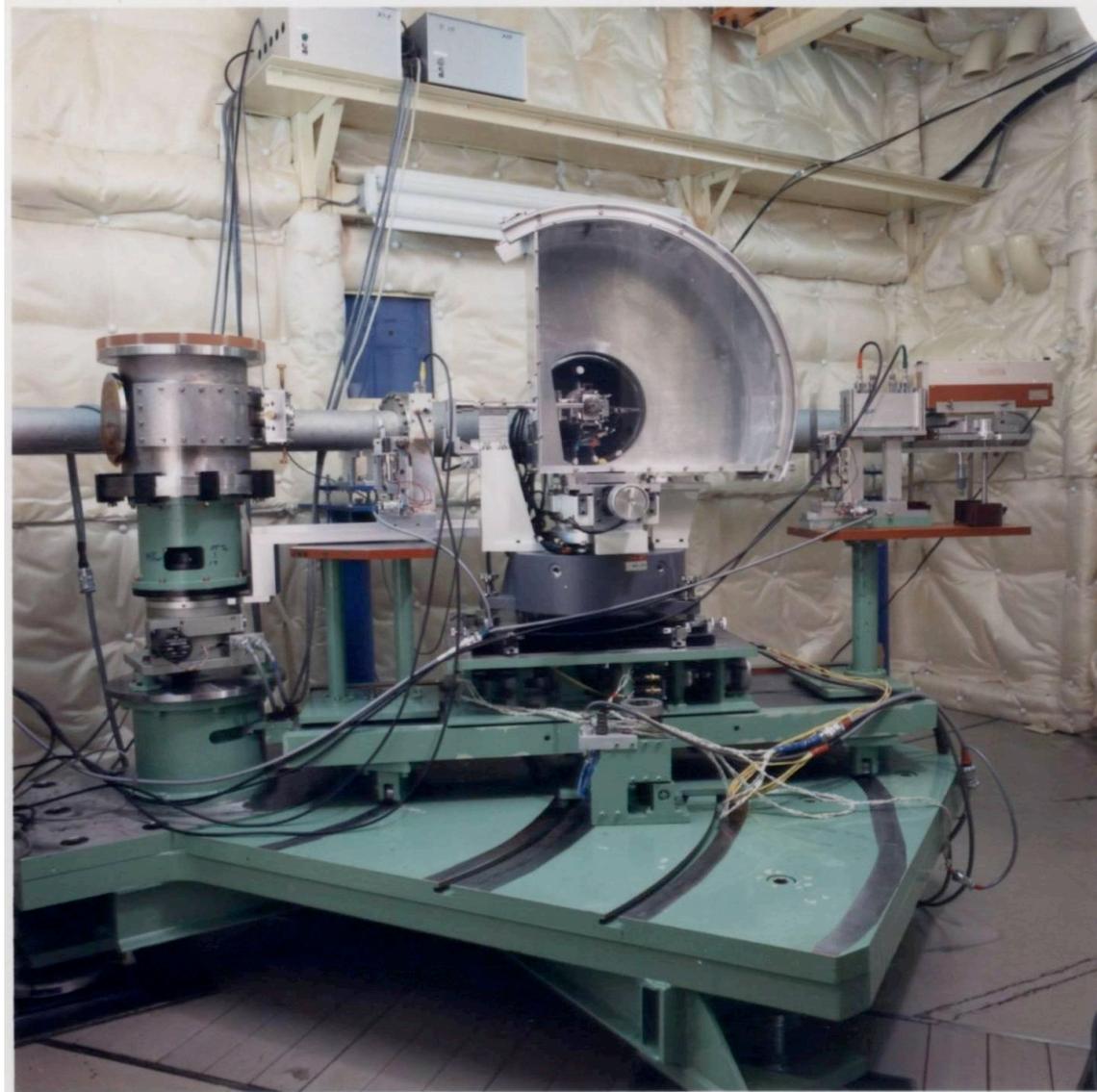
イメージングプレート(IP)による世界初の回折写真(1985年12月18日撮影)、IPは富士フィルム(株)で借り、富士フィルム(株)の足柄研究所に持参し読み取ったイメージ(宮原淳二氏のご厚意による)。



BL6A2共同利用開始

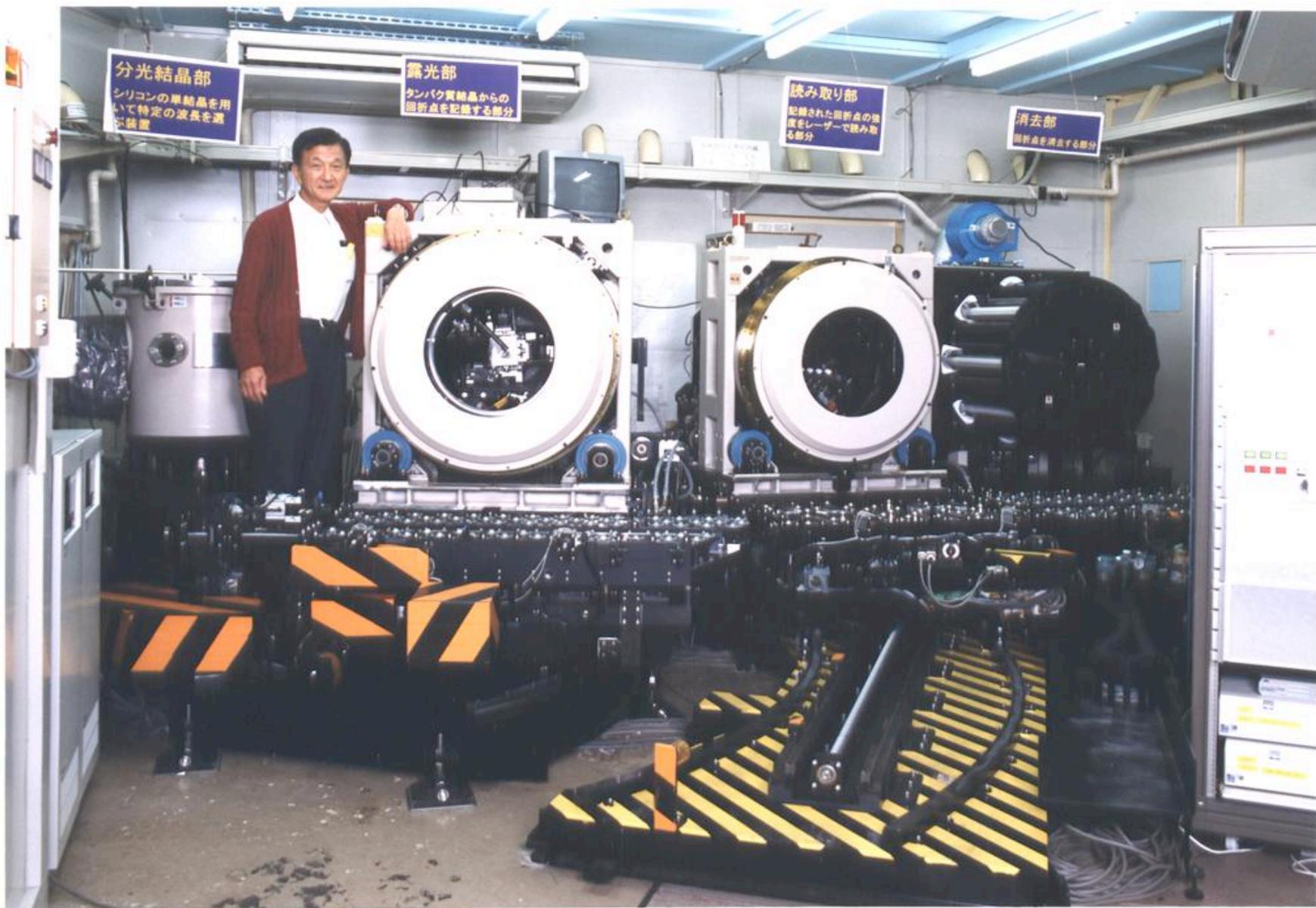
- 1987年にBL6A2ビームライン完成、測定器には名大時代、科研費で理学電機(株)に発注したワイセンベルグカメラ2号機を設置、共同利用を開始。初回の応募者はAda Yonath, 山根隆、坂部知平の3グループのみ。Adaは手製の低温吹き付け装置を持ち込み(当時蛋白質結晶用には低温装置は用いられていなかった)リボゾーム結晶をオイルに浸けて水を除き、低温によるデータ収集をその後10年間行った。この実験を基礎にAda Yonathは昨年度ノーベル化学賞を授与された。
- 1987年PFから車で15分の東光台にあるスタンレー電気に研究室を持ったERATOの難波啓一氏がERATOの予算で理化学用に開発されたIP読取装置の1号機を購入され、難波氏の御好意で昼夜を問わず坂部グループに使用許可と玄関のカードを貸して下さり、坂部グループメンバー(坂部知平、坂部貴和子、中川敦史、渡邊信久)が付き添えば、共同利用への使用許可も下さった。

名大時代坂部知平の科研費で理学電気に製作依頼
カセットは名大金工(舟橋)製作(BL6Aに設置)



神谷信夫

BL6Cに設置されたGalaxy スケール代わりに立たされた身長166cm



Galaxyによるインスリンのd電子

- Ada Yonathに戴いたオイルにヒト2亜鉛インスリン結晶を付けて水を除いた結晶を低温でGalaxyを用いてデータを収集した。
- データは0.75Åまで集め、この時の独立な反射数は93,778であったが、1.0Åより高角の統計値は急激に悪化するので、精密化には1.0Å迄のデータを使用した。
- d-電子の電子密度は以前と比べ大変綺麗になり、距離も1Å迄縮まった。
- これまで、坂部知平、坂部貴和子、佐々木教祐で行って来たd電子の研究チームに2009年、田中清明氏を加えた4人の共同研究を組織した。

Galaxyによるデータ収集して得られた
2Znインスリン結晶中の亜鉛イオンのd電子
立方体の3回軸方向と一致

