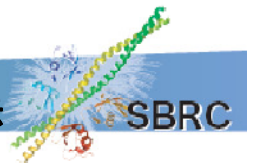


PF研究会
「放射光利用による構造生物学の将来像」
2010年7月12～13日

放射光ビームラインにおける 低エネルギーSAD法

山田悠介
高エネ研 PF/構造生物



低エネルギーSAD法と放射光ビームライン

高輝度

小さな結晶 ($\sim 50 \mu\text{m}$) でもデータ測定可能。

目標は解析高難度タンパク質

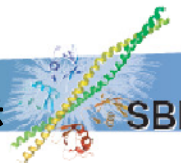
ハイスループット技術

多くの結晶からの高冗長度データ収集が短時間で可能。

波長可変性

低エネルギーSAD法において最適波長が存在？

英Diamond放射光施設等においても低エネルギーSAD専用BLが検討されている。



PFにおける低エネルギーSAD法

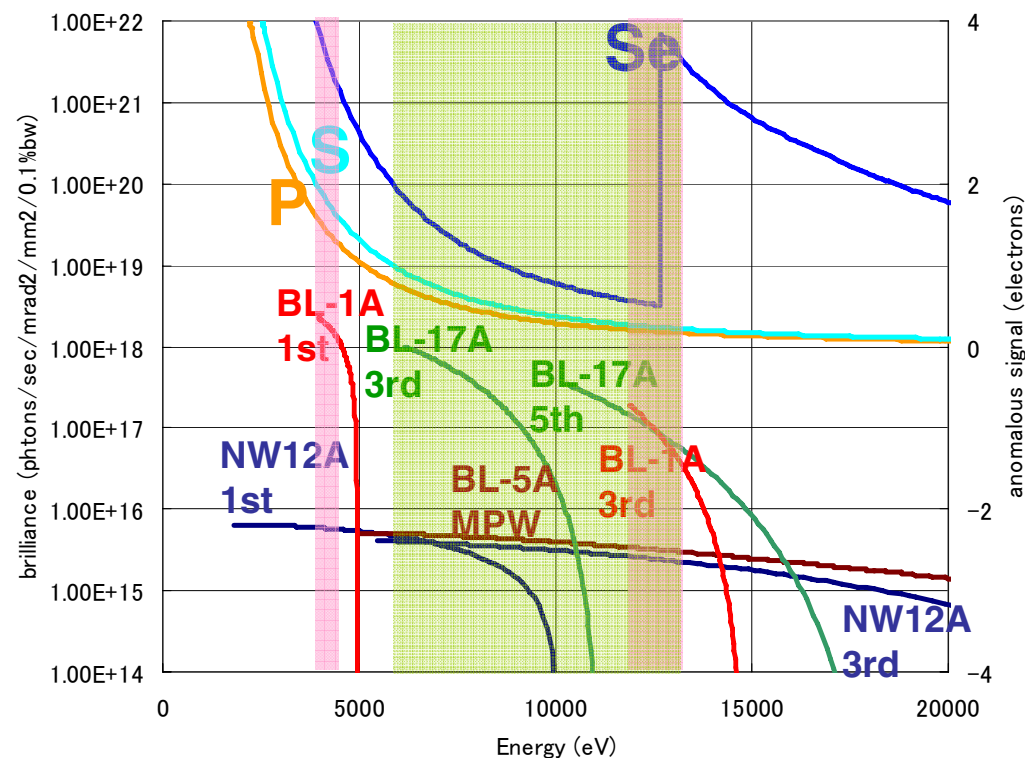
2つのマイクロフォーカス
ビームライン

1. BL17A (2006～)

1.5 ~ 2.2 Åで高輝度ビーム
通常の手法でデータ収集

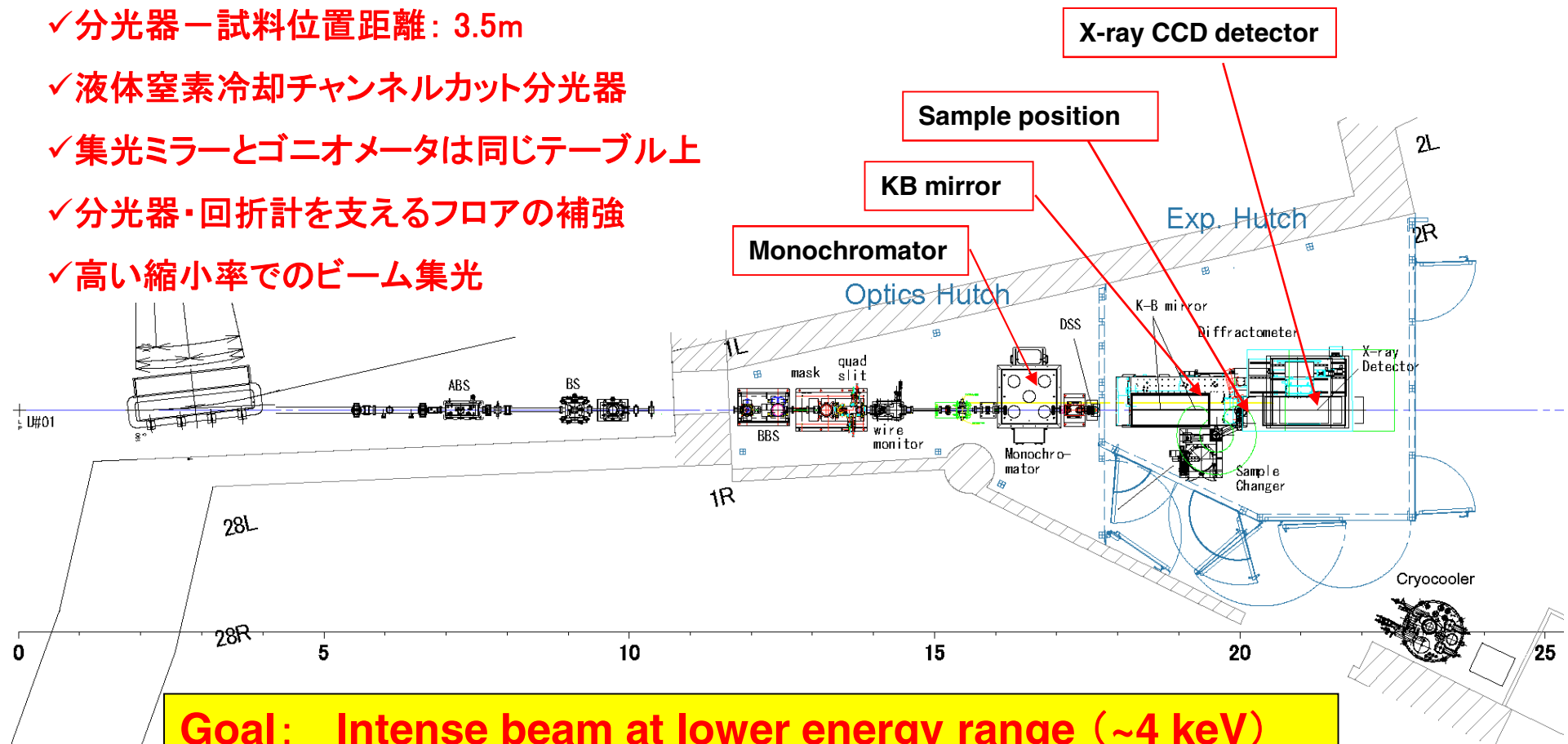
2. BL1A (2010～)

2.7 ~ 3.3 Åで高輝度ビーム
特化した手法でデータ収集



BL-1A: 安定なビーム供給のためのシンプルな ビームラインデザイン

- ✓ 分光器－試料位置距離: 3.5m
- ✓ 液体窒素冷却チャンネルカット分光器
- ✓ 集光ミラーとゴニオメータは同じテーブル上
- ✓ 分光器・回折計を支えるフロアの補強
- ✓ 高い縮小率でのビーム集光



**Goal: Intense beam at lower energy range (~4 keV)
 10^{10} photons/sec/ $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ (optimized)**



回折計周辺の開発

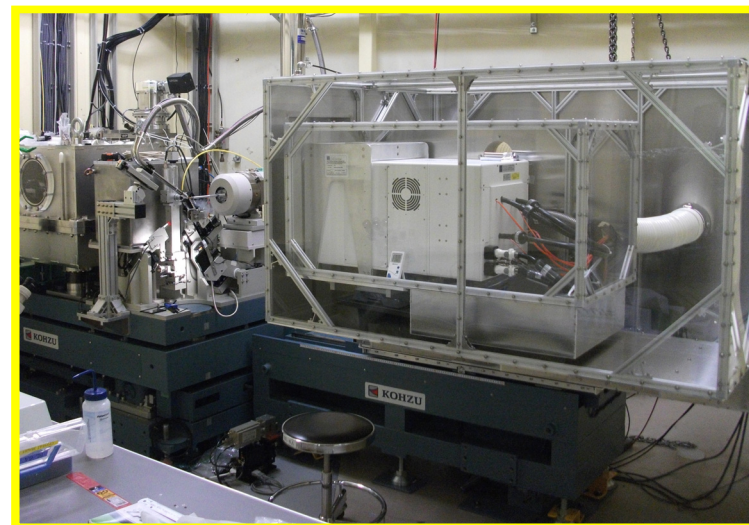
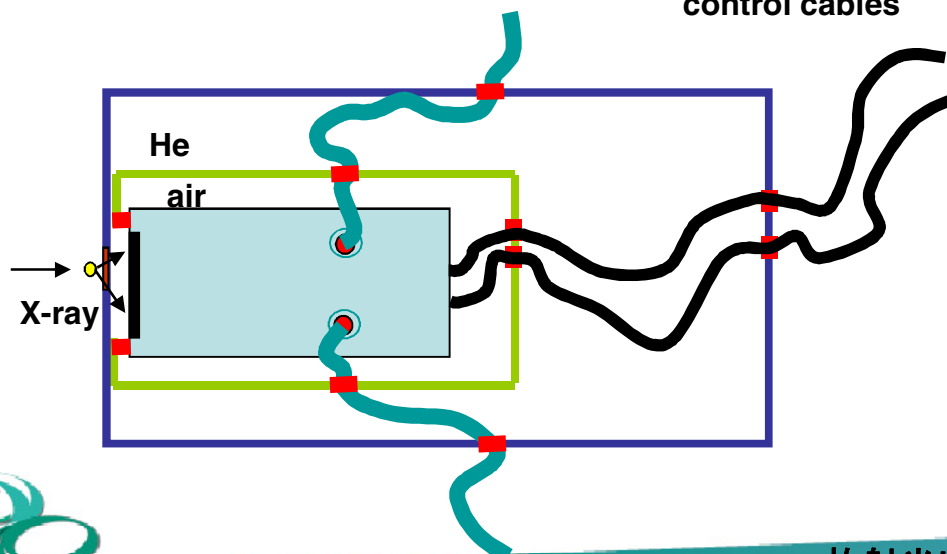
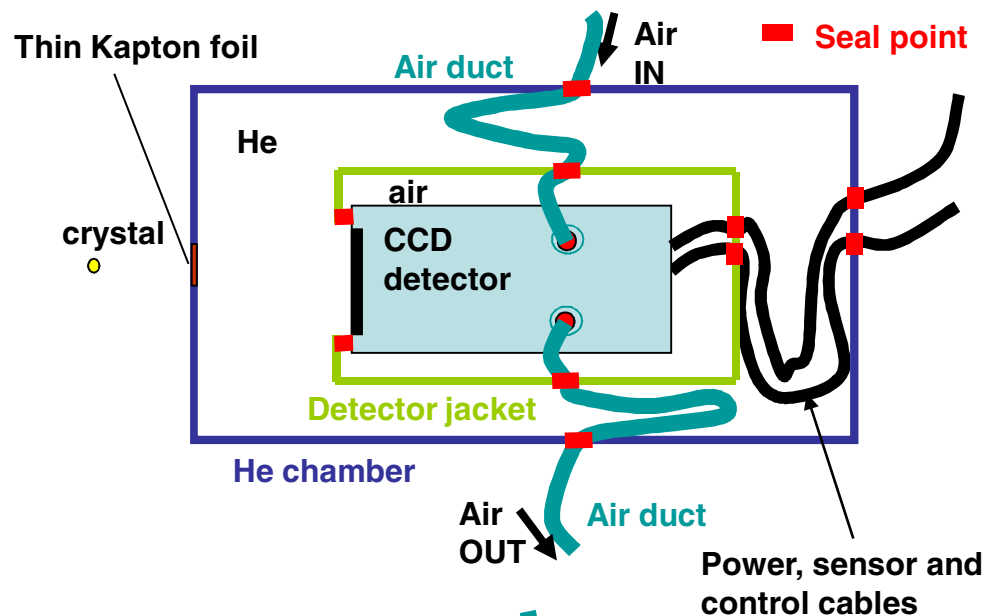


- 高速シャッター
1 ミリ秒以下の精度で制御
- 高精度試料回転軸
0.6 μm 以下の芯ブレ精度
(BL1Aは0.4 μm 以下)
- 高速読み出し、大面積高感度CCD
検出器 (ADSC Q270)

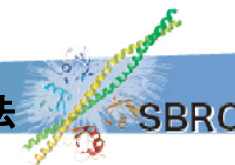
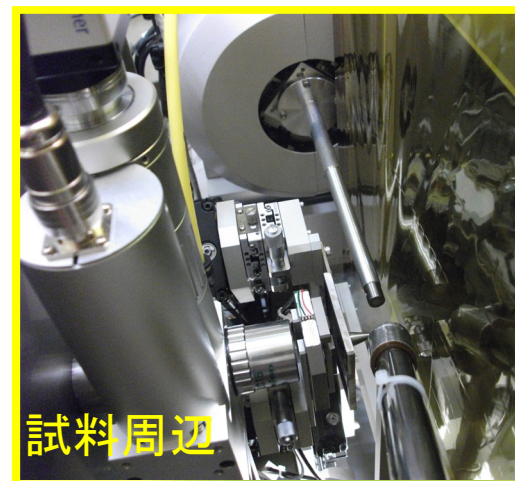
読み出し	1.1秒
有効面積	270 x 270 mm ²
感度	21 e-/photon @ 12.4 keV
最小カメラ距離	40 mm
- 自動結晶交換ロボット
11 秒以内で交換

 **6.2 keVのX線を用いた2.0 Å分解能、360度分のデータセット収集が30分以内で可能に。**

可動式ヘリウムチャンバー



検出器距離を小さくできる



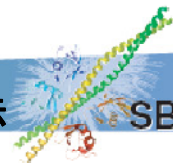
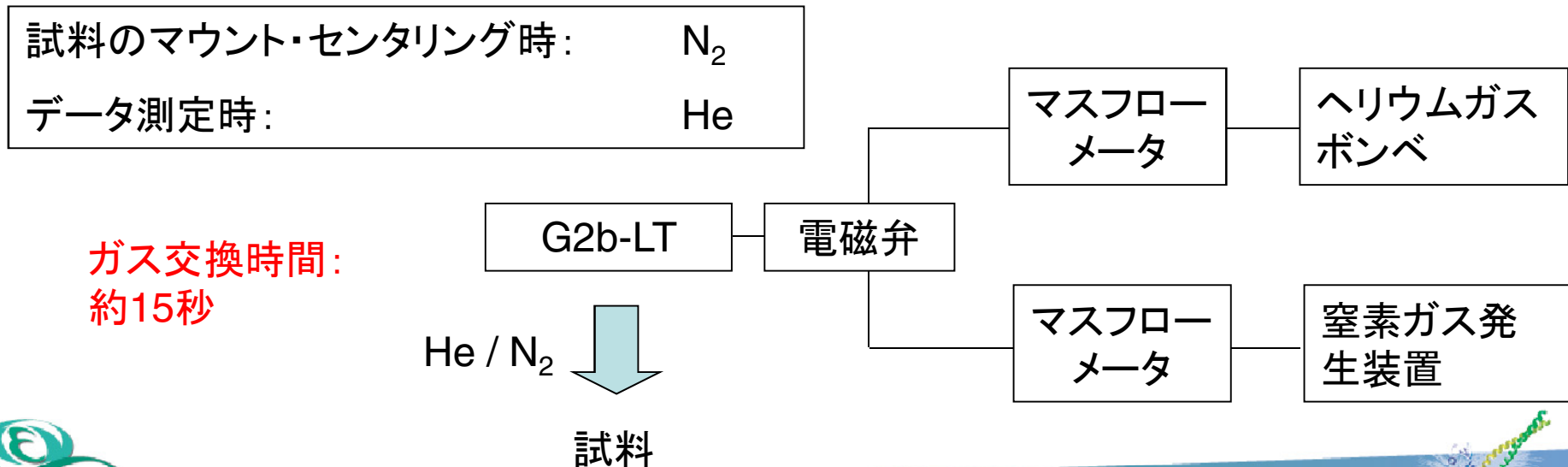
低温ガス吹き付け装置

クライオインダストリー社製 G2b-LT

- 窒素およびヘリウムガス利用可能
- 極低温仕様最低到達温度: 11K
(カタログスペック、ヘリウム使用時)



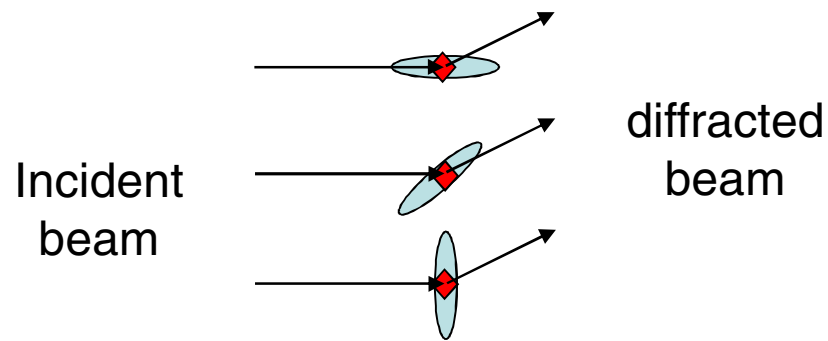
ヘリウム・窒素ガス切り替えシステム



キャピラリートップマウント法

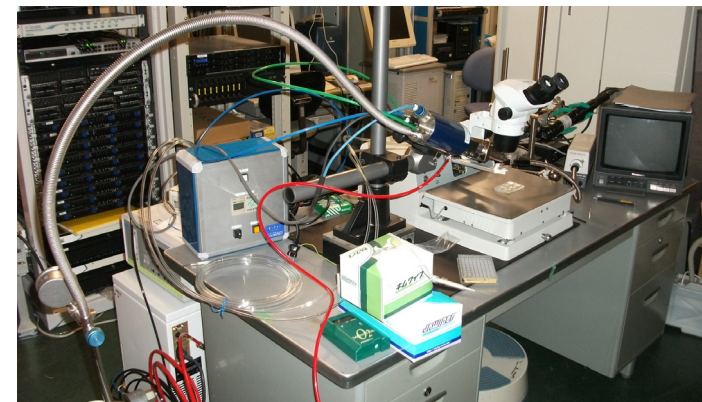
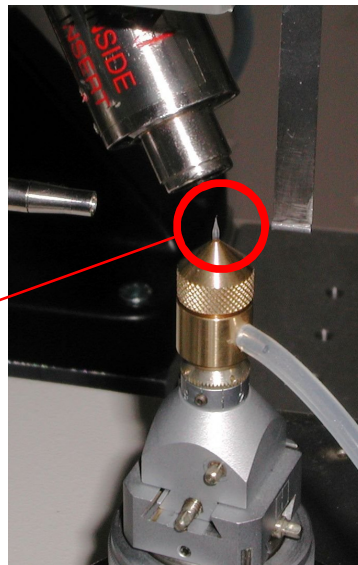
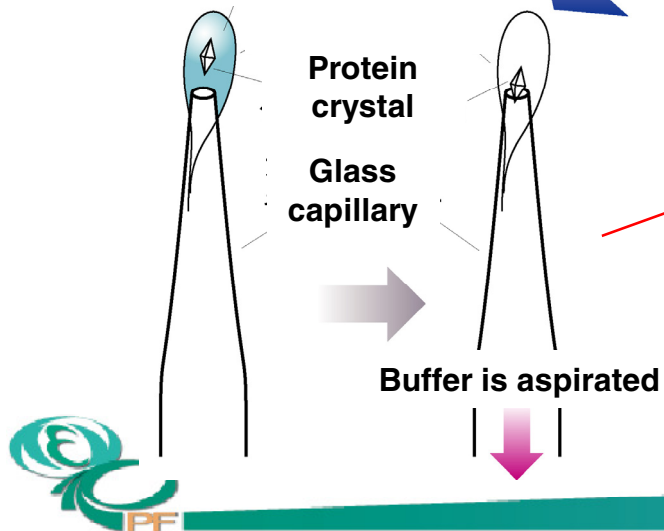
タンパク質結晶周辺の母液を除いた状態で結晶をマウントする

開発: 北海道大学・田中勲研究室



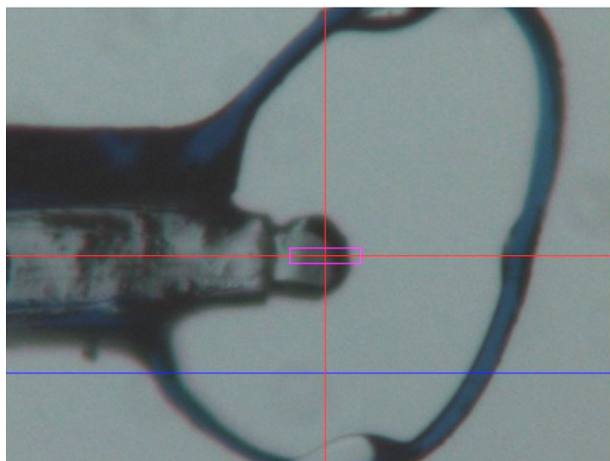
試料の配向に依存して吸収効果が大きく変わるためデータに大きな系統誤差が入る

cryostream



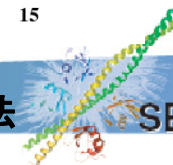
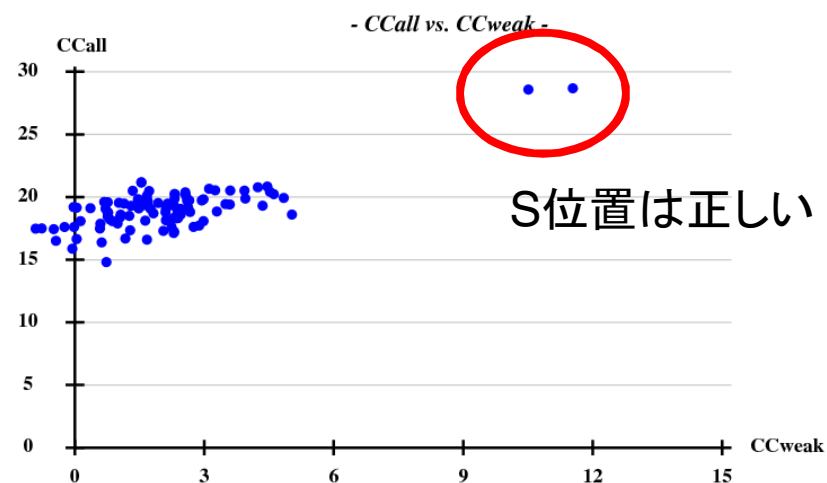
ビームラインに隣接した
セットアップステーション

Data collection at BL1A



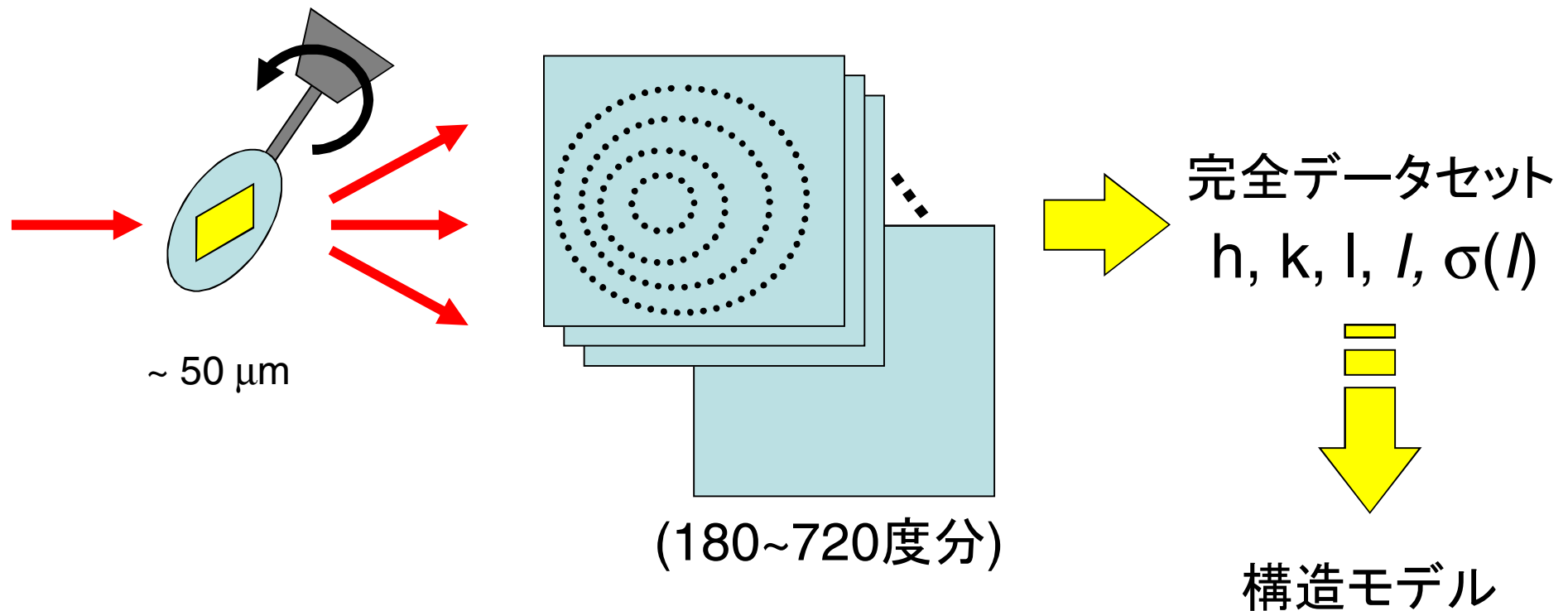
Resolution	48.95 – 2.70
Rmerge	0.073 (0.268)
$\langle I/s(I) \rangle$	31.3 (12.5)
Completeness (%)	100.0 (99.8)
Multiplicity	21.1 (18.1)
Anomalous	
Completeness (%)	100.0 (99.7)
Multiplicity	11.0 (9.2)
DelAnom correlation	0.567 (0.170)

Sample	Glucose Isomerase
Crystal size	150 x 150 x 50 μm^3
Wavelength	2.7 A
Beam size	70 x 9 (H x V) μm^2
Attenuator	Al 0.05 mm (3 % transmission)
Exp. Time	15 sec/frame
Osc. Width	1.0 sec/frame



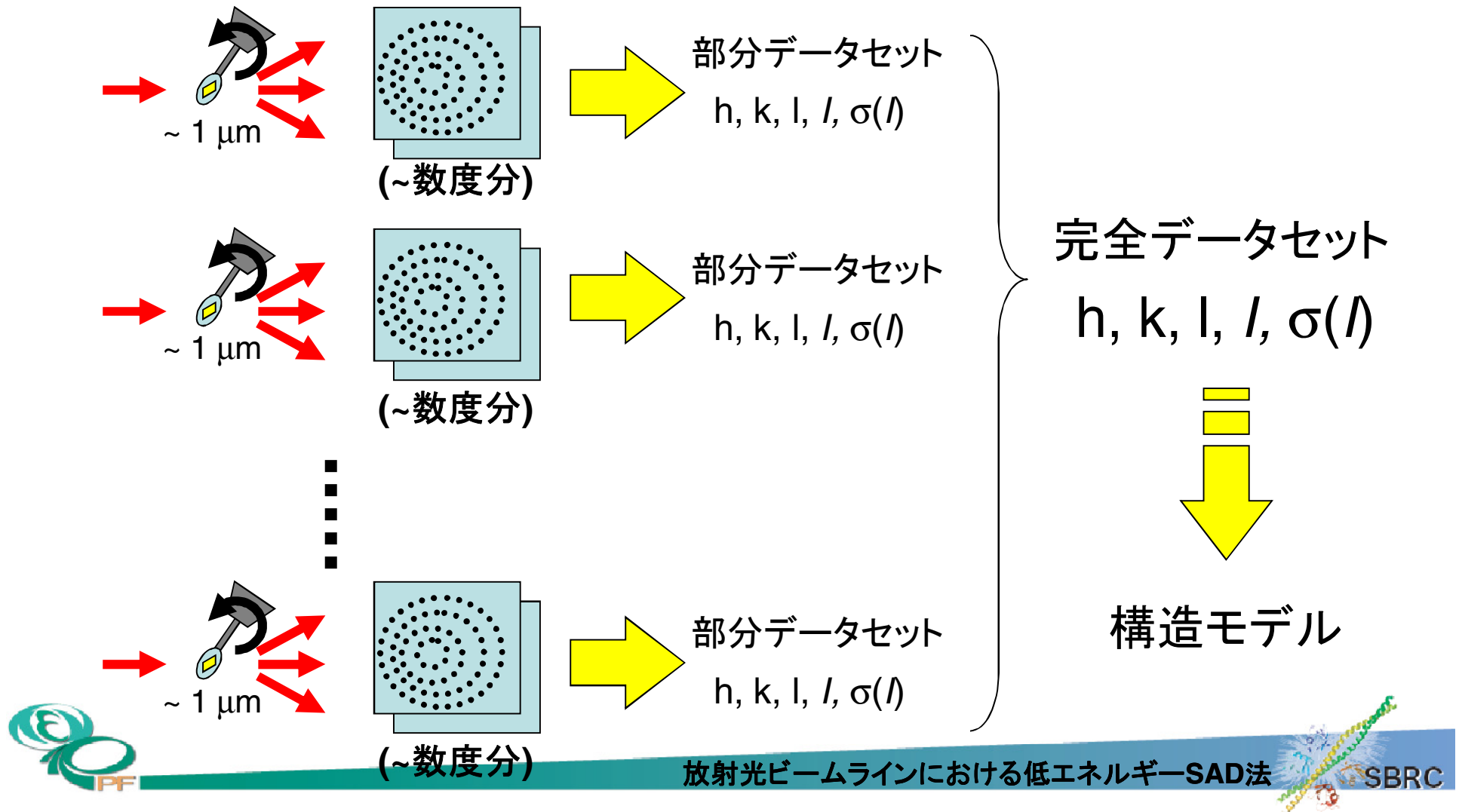
現在のタンパク質結晶構造解析

1個の結晶から完全データセットを取得



微小結晶によるタンパク質の結晶構造解析

放射線損傷のため1個の結晶から完全データセットを取得することは不可能。



今後の課題

- ビームライン・実験装置の改良
 - ビームライン光学系の更なる安定化
 - 試料部のHeチャンバー(完全He雰囲気での実験)
- 複数の結晶による単一データセット収集
 - 放射線損傷を考慮に入れたデータ収集条件の提示
 - 試料情報、データ収集条件、データ処理結果のデータベース化
- 一般ユーザーへの啓蒙

