

新装置紹介

分子システム構造解析装置

協奏分子システム研究センター 教授 秋山 修志、助教 古池 美彦

機能性分子システムや疾患と関連した生体分子システムの構造情報は、学術的に重要であるだけでなく、高分子合成、材料評価、創薬、医療といった幅広い研究・産業分野において重要視されている。分子システムの構築原理を理解し、その知恵に基づいて斬新かつ高機能な分子システムを設計していくためには、それらの分子構造を「より速く」、「より正確に」、そして「階層構造をあるがままに」記録する必要がある。

単結晶X線構造解析は分子構造を評価するための基盤的手法であり、物質科学から生命科学にわたる幅広い研究分野で用いられている。今日、放射光施設に足を運べば輝度・指向性の高いビームが利用できるが、実験に臨むにあたって、先見情報の全く無いまま試料を持ち込むことは経済的・人的・時間的コストからも避けるべきで、実験室系の装置で事前に測定条件を最適化しておくことが望まれる。分子科学研究所に既に導入されている単結晶構造解析装置は、格子サイズの小さな結晶を生じる低分子用に最適化されており、いずれにおいてもMoターゲット ($\lambda = 0.71 \text{ \AA}$) と短いカメラ長が採用されている。よって、ときに数百 \AA に及ぶ格子サイズの生体分子システム結晶を、数 \AA の空間分解能で記録するには著しく不向きとなる。

このたび、導入を検討していた設備(分子系の合理的デザイン・微細加工システム)の一部が、平成28年度施設整備費補助金(国立大学改革基盤強化促進費)により予算措置され、これを受けて分子システム構造解析装置(FR-X Synergy、RIGAKU)を導入するに至った(図1)。Cuターゲット ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) と種々の

カメラ配置を可能とする4軸ゴニオメータを搭載した本装置は、明大寺キャンパス・南実験棟・地下SB10 / SB11に設置されている。以下、装置の基本構成と特徴について概説する。

X線発生部には、実験室系として世界最強クラスの輝度を誇るFR-X(最大X線出力: 45 kV、66 mA)を採用している。ビーム強度を活かしつつ数百 \AA の格子定数をカバーできるよう、光学系(集光部)にはVariMax Cu-HFが設置されている。検出部には半導体検出器のHyPix-6000HE(画素サイズ: $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ 、フレームレート 100 Hz)を採用し、4軸型(2θ 、 ϕ 、 ω 、 κ)のゴニオメータを採用している。また、試料撮影用のCCDカメラを備えており、測定用PCモニター上で結晶の外形や配向を観察・記録することが可能である。試料吹付低温装置を用いて結晶に低温窒素ガス(試料点で約 -180°C)を吹き付けることで、回折像を記録している間の放射線損傷および結晶試料を包埋する溶媒の揮発を最小限に抑えることができる。

今回導入した装置の最大の特徴は、

高輝度X線源からのビームを結晶に連続照射し、4軸ゴニオメータを介して結晶方位と検出器配置を変化させながら、高速読み出しが可能なピクセル検出器を用いて連続的に回折像を記録できる点である(シャッターレス・モード)。これは、高輝度X線源、4軸ゴニオメータ、高速読み出しピクセル検出器、専用ソフトウェアの4点が導入され、かつそれらが一体運用されることで初めて実現する計測モードであり、測定時間の短縮と測定効率の向上をもたらす。

結晶構造解析におけるタンパク質標準試料のリゾチーム結晶をシャッターレス・モードで測定すると、約1時間で最大分解能 1.0 \AA のデータセット取得が完了する(表1)。旧式の回折装置では、線源の弱さから露光時間が約5-10分/フレーム、これにイメージングプレート検出器の読み取り・消去に要する時間(30秒程度)やゴニオメータ回転軸の制限などの要因も加わって、 1.5 \AA 分解能のデータセットを取得するためにオーバーナイト実験になることも多い。この単純な比較からも、システムの飛躍的な性能向上を確認する

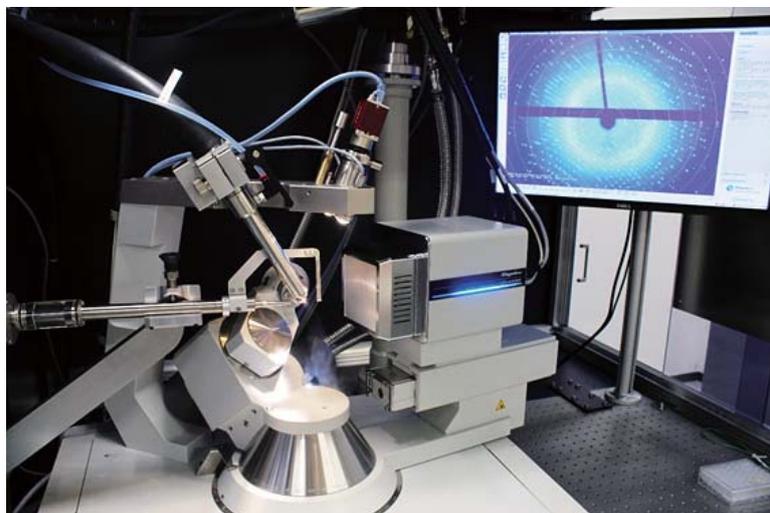


図1 分子システム構造解析装置 (FR-X Synergy、RIGAKU)。

ことができる。

他方、格子定数の大きな生体分子システムについて、同一結晶からの回折像を本装置と放射光施設（第3世代、アンジュレータビームライン）で個別に記録したものを比較した（表1）。放射光（20分）に対して本装置（約17時間）はデータ収集に要する時間が長い、これは圧倒的なビーム強度（露光時間）の違いと検出器面積の違い（本装置では検出器の配置を時々刻々と変えて広角と低角を取り分ける）によるところが大きい。どちらのデータセッ

とも分子置換等による位相付け、構造精密化、分子モデルの構築が可能であることが確認されており、格子サイズの大きな分子システムの構造解析にも適した基盤的設備が整ったといえよう。

分子システムのX線回折実験が円滑に実施されるよう、本装置の周囲には必要な機器類が整備されている。主なものとして、デジタルカメラ（MC 170 HD, Leica）付き光学顕微鏡（M205 C, Leica）、小型低温恒温器（3 ~ 65℃）（SLC-25A, Funakoshi）、極低温用スポンジ状デュワー瓶（Standard FD-800 &

Tall TD-1800, SPEARLAB）、結晶試料ハンドリング用治具類（Crystal Wand & Viral Clamp, Hampton Research）、液体窒素容器10L（シーベル10, BMS）、などが挙げられる。回折装置を利用するためのマニュアルや注意事項がホームページ（https://groups.ims.ac.jp/organization/akiyama_g/imsp.html）に掲載されていますので、使用を検討される前に一読頂けますと幸いです。

表1 結晶構造解析の統計値。

Sample	Lysozyme	Test Sample of Bio-macromolecular System	
Apparatus	FR-X Synergy, IMS	FR-X Synergy, IMS	Undulator Beamline
Wavelength (Å)	1.54	1.54	0.9
Space Group	$P4_32_12$	$P2_12_12_1$	$P2_12_12_1$
Lattice Parameter (Å)	$a=78.6, c=36.8$	$a=129.1, b=136.1, c=187.1$	$a=129.2, b=136.2, c=187.4$
Resolution (Å)	56-1.0 (1.04-1.00)	24-3.0 (3.11-3.00)	50-2.3 (2.38-2.30)
Number of Reflection	62715 (6274)	66457 (6652)	141010 (14003)
Redundancy	12.7 (8.3)	5.6 (4.5)	5.7 (5.3)
Completeness (%)	100 (100)	99.5 (99.7)	96.2 (96.7)
R_{merge}	5.6 (51.2)	14.5 (29.0)	10.4 (59.3)
$\langle I \rangle / \sigma \langle I \rangle$	71.5 (31.3)	6.9 (5.6)	12.8 (2.5)
Experimental Time	72 min	16 h 48 min	20 min

共同利用・共同研究に関わる各種お知らせ

共同研究専門委員会よりお知らせ

共同研究専門委員会では、分子科学研究所が公募している課題研究、協力研究、分子研研究会、若手研究会、および岡崎コンファレンスの申請課題の審査を行っています。それぞれの公募の詳細については分子研ホームページ（<http://www.ims.ac.jp/guide/>）を参照いただきたいと思います。

共同研究の現状について、平成23年度から平成29年度（11月8日現在）までの採択数の推移をまとめたものを下記に示しました。分子科学研究所は、文部科学省「ナノテクノロジープラットフォーム」事業における「分子・物質合成プラットフォーム」の実施機関となっており、通常の協力研究に加え、本事業における協力研究も実施しています。また、下表にある「特別協力研究」とは、共同利用研究の予算ではなく、自前の予算を使用して実施された共同研究です。萌芽的な段階における共同研究や、来所を伴わない共同研究などがこれにあたります。特別協力研究により共同研究の芽を見出すことができれば、是非、積極的に「協力研究」や「課題研究」に応募いただきたいと思います。

これまで「若手研究会等」の名称で公募していた共同研究は、平成30年度前期より、「若手研究活動支援」と名称を変更し、大学院生が主体的に企画する分子科学に関連した各種活動に対する支援を行います。主には、研究会、勉強会などを想定していますが、その他にも可能な範囲で支援を行います。大学院生からの積極的な応募を期待しております。また、教員の皆様には、