

# 放射光による生体高分子結晶構造解析用高速高精度高分解能 自動データ収集システムの開発

## Development of Fully Automatic High Speed Weissenberg Data Collection System (研究プロジェクト番号：JSPS-RFTF 96R14501)

プロジェクトリーダー

大嶋 建一 筑波大学物質工学系・教授

メンバー

坂部 知平

国際科学振興財団研究開発部・主席研究員

坂部貴和子

国際科学振興財団研究開発部・専任研究員

佐々木教祐

名古屋大学大学院環境学研究科・教授

渡邊 信久

北海道大学大学院理学研究科・助教授

鈴木 守

高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所・助手

東 常行

理学電機X線研究所・副所長

雨宮 慶幸

東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授

相原 茂夫

京都大学大学院農学研究科・助教授



### 1. 研究目的

生体高分子の静的並びに動的三次元構造は生命に係わる全ての機能や維持機構を理解するための基礎であり、それを分子の大きさに拘わらず解析できる方法は X 線結晶構造解析以外には無い。そのために最も重要である回折データ収集に関する開発を下記のように推進した。

- (1) 大型イメージングプレートを用いた放射光利用自動データ収集システムの開発 (坂部知平、坂部貴和子、佐々木教祐、渡邊信久、鈴木守、東常行)
- (2) 連続露光が可能なアレイ状 CCD 型 X 線検出器の開発 (雨宮慶幸)
- (3) 宇宙の微小重力場を利用して正確なタンパク質構造を構築すること (相原茂夫)

### 2. 研究成果概要

#### 2.1 大型イメージングプレートを用いた放射光利用自動データ収集システムの開発

1. 本装置は分光器、カメラ部、読取部、消去部、搬送部、制御部と高安全性・高速ネットワーク、大型データサーバー、データ処理部等からなり、放射光の特徴を最大限に利用した全く新しいタイプの完全自動データ収集システムである。
2. 完全円筒のカセットを導入し1カセット上に最高36フレーム記録でき、それらのイメージを5個の読取ヘッドを備えた読取部で僅か4分38秒で読み出す。
3. ワイセンベルグモードが使用でき、1フレーム当たり振動角10度以上記録可能。
4. 8,600 X-ray photon に対し r.m.エラーは1.5%であり、高精度を備えた装置である。
5. 波長1 を使用した場合、最高分解能 ; 0.57 までのデータ収集が可能である。
6. カメラ半径が400mmあり、格子定数が300迄はまず問題なくデータ収集が可能である。
7. ダイナミックレンジが6桁ある。

8. 測定からデータプロセスまで一貫して自動化されている。



9. 大型データサーバーを含む安全性の高い高速ネットワークに結合されている。
10. この他、自動軸立て機能、自動光軸合わせ機能、低温吹き付け装置等が備わっている。
11. 将来性として、本装置はフレーム交換速度が大きいこれを更に加速し、高輝度 X 線源に設置し、ラウエ法より極めて一般性のある単色 X 線を用いた秒オーダーの時分割 X 線解析に応用できる。本装置は測定精度が良いので、今流行りの多重異常分散法 (MAD) を乗り越え更に時間の掛からない単一異常分散法の適用が可能になる。

#### 2.2 連続露光が可能なアレイ状 CCD 型 X 線検出器の開発

シンクロトン放射 X 線を用いたタンパク質結晶構造解析では、10~20秒程度の短時間で1枚の X 線回折像を測定することができるので、測定のさらなる迅速化を実現するためには高感度でしかも短時間で X 線回折像を読み出すことができる X 線検出器の開発が望まれている。我々は18個の CCD をアレイ状に並べたアレイ状 CCD 型 X 線検出器の開発を行い、露光と読み取りが同時にできる高感度かつ高速の X 線検出器の開発を行った。従来の CCD 型 X 線検出器では2~5秒程度の画像読み取り時間を

必要とするが、我々の開発した検出器では一つの CCD を露光領域と蓄積領域とに分割して用いるため、X 線露光中にデータの読み出しを同時に行うことができ、画像読み取り時間はゼロであることが大きな特徴である。この検出器を用いると試料結晶を連続回転しながら測定を行うことができ、X 線シャッターの開け閉めも不要になり、高速化と共に実験精度の向上も可能になる。開発した X 線検出器の受光面積は 213mm×213mm であり、感度はイメージングプレート程度に高感度である。



### 2.3 蛋白質の結晶成長と微小重力の影響

スペースシャトルや宇宙ステーションを利用した宇宙の微小重力環境では結晶成長速度が遅延する。微小重力場と地上において同一条件で蛋白質単結晶を調製し、両者の結晶内の分子配列や分子構造を比較することにより蛋白質結晶成長に対する宇宙の微小重力場の影響を考察した。その結果、宇宙で成長した蛋白質単結晶の結晶内の分子配列は地上に比較して向上し、良質の単結晶が成長したことが判明した。宇宙で調製した良質の蛋白質単結晶は医薬品の開発研究のために必要な、正確な蛋白質構造情報を提供することが可能である。

## 3. 結論

全く新しいアイデアにより大型イメージングプレートの特長を生かし、放射光の性質に適した自動データ収集システムの開発に成功した。CCD として世界最大の受光面積を持ち、100% Duty-cycle rate 3×6 アレイ状 CCD 型 X 線検出器が開発された。この他、蛋白質の結晶成長と微小重力の影響が研究された。

### 主な発表論文

- 1 . N.Sakabe, K.Sasaki, N.Watanabe, M.Suzuki, Z.G.Wang,J.Miyahara,N.Sakabe:”Large-Format Imageing Plate and Weissenberg Camera for Accurate Protein Crystallographic Data Collection Using Synchrotron Radiation”J. Synchrotron Rad. **4**, 136-146 (1997)
- 2 . K.Sasaki, N.Watanabe, N.Sakabe and K.Sakabe: “Computer Network system with security for protein data collection system at the Photon Factory” J. Synchrotron Rad. **6**, 116-118 (1999)
- 3 . N.Watanabe, M.Suzuki, Y.Higash, and N.Sakabe: “Rotated-inclined focusing monochromator with simultaneous tuning of asymmetry factor and radius of curvature over a wide wavelength range” J. Synchrotron Rad **6**, 64-68 (1999)
- 4 . N.Sakabe, K.Sakabe, T.Higashi, N.Igarashi, M.Suzuki, N.Watanabe, K. Sasaki: “Automatic Weissenberg data collection system for time-resolved protein crystallography” Nucl. Instrum. Methods, **A 467-468**, 1367-1371 (2001)
- 5 . K.Ito and Y.Amemiya: "CCD-based X-ray detectors", Journal of the Japanese society for synchrotron radiation research, **13** (2000) 372 - 381. ( in Japanese)
- 6 . S.Aibara, K. Shibata and Y.Morita: “Protein Crystallization in Microgravity” Biological Science in Space , **11**, 339-345 (1997)