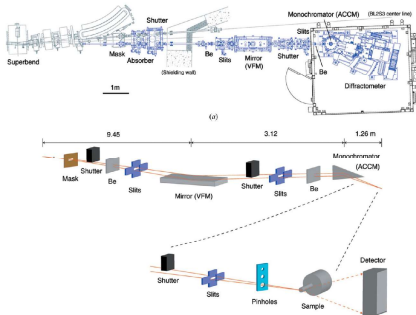


概要

あいちシンクロtron光センターの名古屋大学ビームラインBL2S1は、主に単結晶構造解析を対象とした硬X線ビームラインとして2015年から供用された。BL2S1は超伝導偏向電磁石を光源として、湾曲平板の垂直方向の集光ミラー、X線を単色化して集光使用することが出来る水平分散のGe湾曲非対称三角結晶の分光器を2台を使い分ける回折測定用のビームラインである。2台の非対称集光1結晶分光器により波長0.72 Å(17 keV)と1.12 Å(11 keV)の硬X線が利用できる。0.1 mm程度の微小なタンパク質や有機分子の常温または凍結状態の結晶構造解析のみならず、直径50 mmもある高圧セルを使った粉末回折測定も可能な高い柔軟性の回折計が整備されている。2022年秋より、二次元検出器をCCD検出器からハイブリッドフォトンカウント検出器Pilatus 1Mに改装し、測定速度と検出感度が大幅に改善された。硬X線を使った様々な手法の開発及びに学術と企業の幅広いユーザーの測定支援に取り組んでいる。

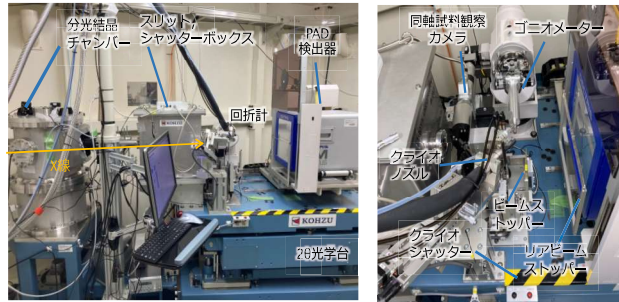
ビームライン構成



ビームライン性能

使用可能なエネルギー(波長)	11 / 17 keV (1.12 / 0.72 Å)
光子数 (photons/s) * @0.20mmΦ	1.1 x 10 ¹⁹ @11 keV (1.12 Å) 4.6 x 10 ⁹ @17 keV (0.72 Å)
ピンホールサイズ	0.10, 0.15, 0.20 mmΦ
エネルギー分解能 (ΔE/E)	< 2x10 ⁻³ (@11 keV)
検出器	Pilatus 1M (169 x 179 mm ²)
検出器距離	100 - 340 mm

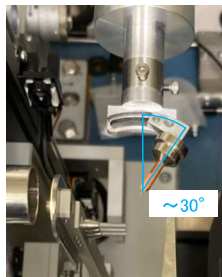
ハッチ内部の回折計と検出器



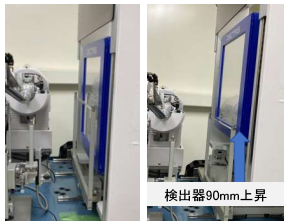
特徴

広い測定領域

追加軸ツールによる多角測定



検出器のオフセット可動

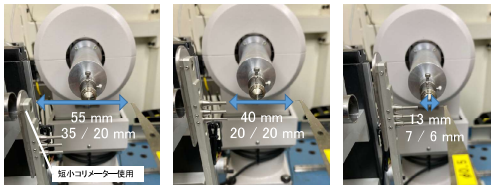


検出器の距離とオフセットと分解能

検出器距離	波長 0.72 Å	波長 1.12 Å
100 mm	1.04	1.62
→ +90 mm 上昇	0.81	1.26

多様な測定環境

試料位置のユニークな拡張性

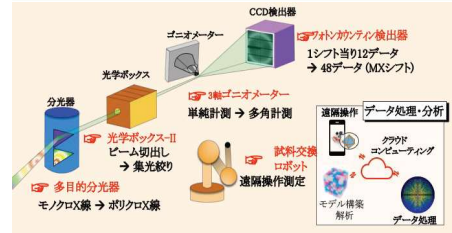


拡張性を利用した多様な試料ホルダー



ビームラインの将来構想

自動化および個人的かつ先進的な設備による競争力のあるビームラインへ



結晶化から構造解析までのトータル支援構想



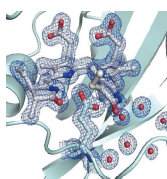
データの完全性が難しい結晶や、高分解能なデータが要求される低分子結晶や粉末回折に向けて、広い測定領域が提供できる機構を持っている。

粉末を内包したキャピラリーや、凍結状態の微小なタンパク質結晶だけでなく、高圧セルなどの大型試料ホルダーも搭載が可能な拡張性のある回折計が整備されている。

利用状況

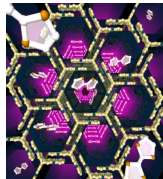
BL2S1は多様な試料に対応するマルチユースなビームラインとして、構造生物のみならず、合成化学や高圧科学のなど、様々な研究分野で利用され、多くの学術成果が報告されている。

構造生物



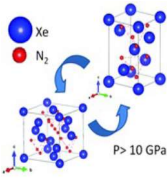
Nagae, T., et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2021)

合成化学



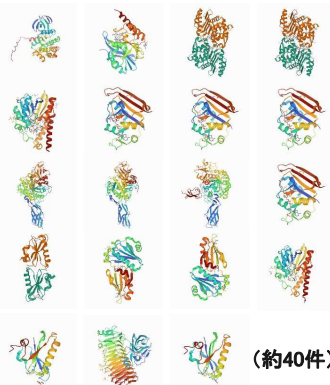
Ushiroguchi, R., et al. *Crystal Growth & Design*, (2020)

高圧科学

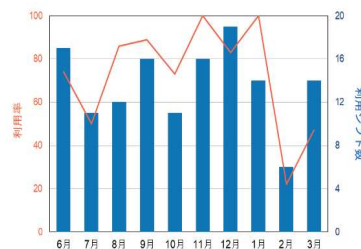


Niwa, K., et al. *Phys. Chem. Chem. Phys.* (2017).

BL2S1で解析されたタンパク質



年間の利用率(2020年度)



利用実績

2019年度	2社	10研究室	178シフト
2020年度	5社	11研究室	136シフト
2021年度	4社	9研究室	132シフト

お問合せ先

〒464-8603
名古屋市中種区不老町 工学部8号館南棟606号室
名古屋大学シンクロtron光研究センター 事務室

E-mail: staff_jimu@nusr.nagoya-u.ac.jp

電話: 052-747-6562 (内線6562)



<https://nusr.nagoya-u.ac.jp>

酵素を活性化させる「デコイ分子」と酵素の共結晶構造解析※[1]

1. 背景

タンパク質は生き物が作り出す最小の機械であり、化学物質を変換する酵素は特定の分子を高度に認識し、目的の物質を作る為に特定の反応を触媒する。しかし、その生物が意図しないような高度に設計された分子が結合すると、阻害剤として酵素の機能を停止させたり、本来機能しない条件下で活性化状態を維持することが可能である。本研究では1分間当たり10000回以上酸化反応を触媒する酵素P450BM3に対して、基質と似ているが基質よりも小さい分子「デコイ分子」を網羅的に合成しスクリーニングすることで活性化させ、安定な共鳴構造を持つベンゼンの一段階水酸化反応を1分間当たり400回転という速さで触媒させることに成功した。BL2S1ではスクリーニング過程におけるデコイ分子と酵素の共結晶の測定を試みた。

2. 実験内容

試料: P450BM3水溶液に沈殿剤を加えて調製した結晶試料
 測定条件: X線エネルギー 11.0 keV (1.12 Å)
 露光時間 10 sec × 360shot
 試料の回転 10 sec / 1°, 0-360°

名古屋大学大学院 理学研究科 物質理学専攻 荘司長三 教授

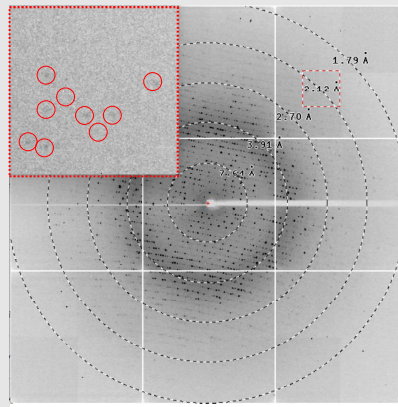


図1 XRD測定結果@BL2S1

	3CHPA-Pro-Phe	3CCPA-Pip-Phe
Protein Data Bank (PDB) ID	6K3Q	6L1B
Beam source	AichiSR BL2S1	SPring-8 BL26B1
Space group	$P2_1$ (No.4)	$P2_1$ (No.4)
Unit cell a, b, c (Å)	59, 148, 64	59, 148, 64
α, β, γ (deg.)	90, 98.6, 90	90, 99.3, 90
Resolution (Å)	48.31-2.06	48.00-1.74
最大値のデータ(%) 内訳	(2.11-2.06)	(1.77-1.74)
I/ σ (I)	8.0 (1.3)	13.0 (1.4)
cc1/2	(0.610)	(0.517)
Completeness	99.6 (94.7)	99.1 (98.1)
Redundancy	7.0 (6.9)	7.7 (7.7)
R_{work}/R_{free}	21.0/26.5	12.2/20.3

表1 XRD測定統計値@BL2S1, Spring-8 BL26B1

3. 結果および考察

- 図1に、蛋白質の単結晶回折測定により得られた回折像を示した。タンパク質の周期構造に由来するX線の回折点が確認できる。
- 表1は、回折点の強度積分から算出した結晶格子、空間群等が記載された統計値である。2.06 Å (およそ1mの50億分の1) 分解能のデータを利用し、タンパク質と設計した分子の構造を捉えることに成功した。
- 図2は、解析したタンパク質の一部と設計した分子が結合した結晶構造を示した図である。左図はAichiSR BL2S1で解析したスクリーニング過程におけるデコイ分子の構造で、右図はスクリーニング後のデコイ分子の構造である。デコイ分子が、酵素の活性中心(ヘムの鉄原子)から8 Å以内の位置まで接近して結合している。スクリーニング後の構造では水を介した強固な結合が確認できる。

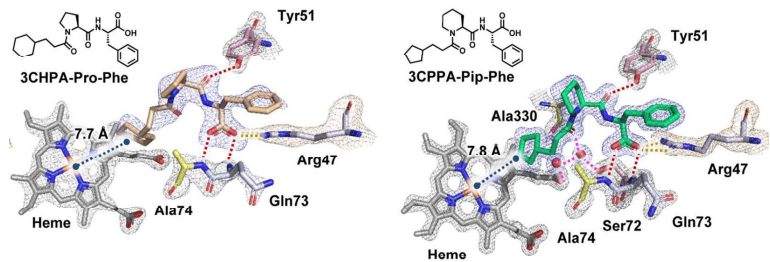


図2 デコイ分子近傍のP450BM3の結晶構造、左図 AichiSR BL2S1、右図 Spring-8 BL26B1

※[1] K. Yonemura, S. Ariyasu, O. Shoji et al. *ACS Catalysis*, 2020, 10, 16, 9136-9144

“Systematic Evolution of Decoy Molecules for the Highly Efficient Hydroxylation of Benzene and Small Alkanes Catalyzed by Wild-Type Cytochrome P450”

高圧下で合成された前期遷移金属窒化物の構造解析※[2]

1. 背景

数十GPaの超高压力下では、大気圧下での合成が困難な物質の創成が可能となる。大気圧下で合成される窒化物には、硬質性や耐磨耗性、超伝導性など様々な物性を有し、実用材料として用いられる物質も多い。したがって、超高压下で合成される新規窒化物の物性に興味を持たれている。また、超高压下で合成される窒化物の多くは大気圧下に準安定的に回収できるものが多い。しかしながら、合成後の試料サイズが数十 μ mであるため、物性測定の報告はほとんどないことが現状である。本研究では高圧合成法を用いてVN粉末からVN₂の合成を行い、BL2S1において粉末結晶のX線回折実験を行い構造情報を評価した。

名古屋大学大学院 工学研究科 物質科学専攻 丹羽健 准教授

2. 実験内容

試料: δ -VN粉末と液体窒素を85GPaで加熱した試料
 試料ホルダー: ダイヤモンドアンビルセル (高圧)
 ポリイミドフィルム (常圧)
 測定条件: X線エネルギー 16.5 keV (0.75 Å)
 露光時間 5 min

※セル内圧はルビーの蛍光を用いBL2S1付属の蛍光顕微鏡で決定した

3. 結果および考察

- 図1に、BL2S1で測定した常圧測定時の回折像を示した。
- 図2に、BL2S1で測定した高圧測定(9.4GPa)の回折像を示した。
- 図3に、高温高圧条件下で生成させたVN₂の回折プロファイル(+)を示した。基質のVNやダイヤモンドアンビルセルのガスケット素材(Re)の回折パターンと一致せず、CuAl₂-型VN₂の理論的回折プロファイル(黒線)と一致した。Rietveld解析により得られた残差プロットを青線で示した。バナジウム原子が窒素原子の反四角柱内に配置される事を解明した。
- 図4は、減圧実験におけるVN₂の常圧で規格化された格子定数および体積の圧力応答を示した。密度汎関数理論計算の理論値を白抜きのプロットで示し、3次のBirch-Murnaghan状態方程式にフィッティングした結果を実線で示した。(本測定: SPring-8 BL10XU)
- 表1に、常温測定時のRietveld解析の統計値を示した。

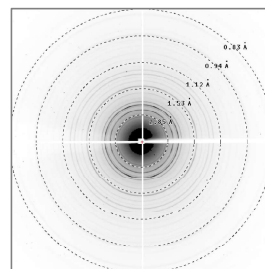


図1 常圧粉末XRD測定結果@BL2S1

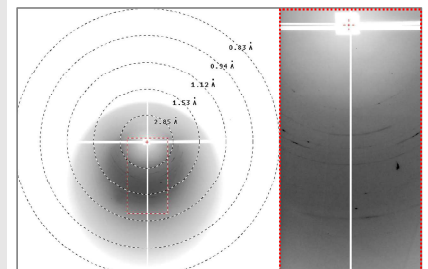


図2 高圧粉末XRD測定結果@BL2S1(予備測定)

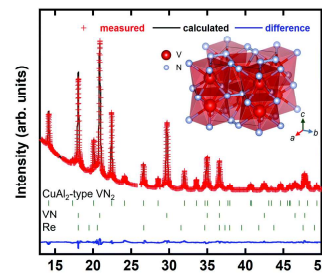


図3 XRD測定時の回折プロファイル

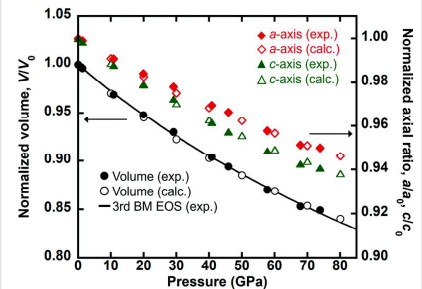


図4 常圧の値で規格化した格子定数と体積の圧力応答

Cell parameter	
Chemical formula	VN ₂
Space group	$I4/mcm$ (No. 140)
a / Å	4.30149(12)
c / Å	4.98273(16)
V / Å ³	92.195(5)
Z	4
D_{calc} / g cm ⁻³	5.688

表1 Rietveld解析の統計値

Refined parameters & Reliability factors	
2θ range / deg.	13.21-52.99
2θ step / deg.	0.01
No. of refined parameters	53
S (goodness of fit)	0.3570
R_{wp}	1.211
R_p	0.855
R_B	0.561
R_F	0.315

※[2] S. Asano, K. Niwa, et al. *Dalton Transactions*, 2022, 51, 2656-2659

“High pressure synthesis and the valence state of vanadium ions for the novel transition metal pernitride, CuAl₂-type VN₂”