

2P084

X線自由電子レーザー（XFEL）と組み合わせた蛋白質単分子構造解析に用いる液体ビームの作成

（東大院・総合）○平沼 洋次郎, 鹿庭 圭将, 宮島 謙, 真船 文隆

【緒言】近年、蛋白質の構造解析において、結晶化が困難な蛋白質は通常の X 線回折では構造解析に適さないため、結晶化を介さずに解析を行う手法の確立が期待されている。その方法の 1 つとして、X 線自由電子レーザー（XFEL）を用いた、単一蛋白質分子の回折法がある。ここでは、蛋白質 1 分子に XFEL を照射し、蛋白質単分子構造解析が可能となると考えられている。単一分子の回折を行うために、蛋白質試料を真空中に導入する方法を確立する必要がある。我々は、真空中の液体流である液体ビームに着目した。

従来、液体ビーム作成には直径 20 μm の小孔のあいた白金アパーチャーを用いてきた。ステンレスのパイプに半田付けし、液体クロマトグラフ用ポンプとつなぐことで、20 μm の液体ビームが形成されることを確認した[1]。しかし、この直径では、実際に蛋白質粒子を溶媒に溶かし、液体ビームとして XFEL のターゲットとすると、溶媒分子が測定に干渉することが問題となると考えられる。この問題を解決するためには、液体ビームの径の微小化により、溶媒分子の数を減らすことが有効である。微小化できれば、用いる蛋白質試料の量もごく少量にすることができる。そこで、我々はガラスキャピラリーを用い、再現性良く簡便に細い液体ビームが作成できる方法を開発した。

【実験方法】図 1 に実験装置の概略を示す。液体ビームに対して垂直方向からレーザーを照射すると、液体の両側を抜けてきた光が互いに干渉し合い、スクリーン上に干渉縞を作る。実験で得られた干渉縞を画像解析し、その光の強度分布を理論式でフィッティングすることで、液体ビームの径を見積もった[1]。液体ビームにおいては 20 μm のアパーチャー、8 μm および 5 μm のガラスキャピラリーを用いてビームを作成し、画像解析を行った。

1. 20 μm アパーチャーを用いた液体ビーム

図 2 に 20 μm アパーチャーを用いて作成した液体ビームの干渉縞の強度分布を示す。実験値が計算値とよく一致し、液体ビームの径は 17.0 μm と計算され、アパーチャーの穴の径とほぼ一致した。

図 3 は液体ビームのノズル部を 0 mm とおいたとき、干渉パターンと解析結果を液体ビームの距離ごとに示した表である。0.1 mm 毎に解析を行ったところ、0.3 mm から 2.0 mm までは干渉縞が観察でき、同じ径を保っていることが確認できた。以上のことから、液体ビームは 2.0 mm まではアパーチャーの穴の径とほぼ同等の連続液体流として形状を維持し、その後液滴状になることが分かった。

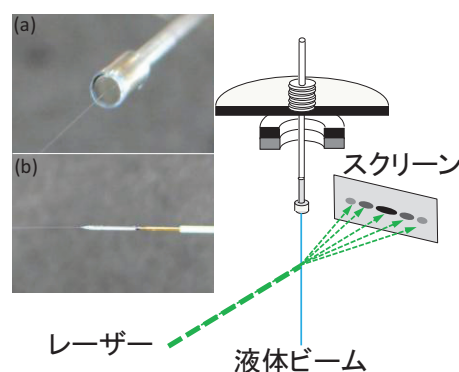


図 1 実験装置概略図と液体ビーム (a) 20 μm 白金アパーチャー、(b) ガラスキャピラリー

2. 8 μm および 5 μm ガラスキャピラリーを用いた液体ビーム

図 4 (a)に 8 μm キャピラリーを用いて作成した液体ビームの干渉縞の強度分布を示す。実験値が計算値とよく一致した。このとき、液体ビームの流速は 0.04 ml/min、ポンプの圧力は約 20 気圧であり、液体ビームの径は 7.9 μm と計算された。この結果は 8 μm キャピラリーの穴の径とほぼ一致するものであり、キャピラリーを用いることで、従来の液体ビームより細い径を持つ液体ビームを作成することができた。

図 4 (b)に 5 μm キャピラリーを用いて作成した液体ビームの干渉縞の強度分布を示す。実験値が計算値とよく一致した。このとき、液体ビームの流速は 0.03 ml/min、ポンプの圧力は約 20 気圧であり、液体ビームの径は 6.1 μm と計算された。液体ビームが 5 μm よりも太く見積もられた理由として、ガラスキャピラリーの先端部が圧力に耐えきれずに割れて、径が大きくなった可能性があるが、キャピラリーの径を変えることで、異なる値の径を持つ液体ビームを作成することができた。このガラスキャピラリーは、レーザーを用いて熱処理を行う際の温度や、加える力を変えることで様々な口径が作成可能であるため、将来、より細い径の液体ビームを作成することが可能となると期待できる。

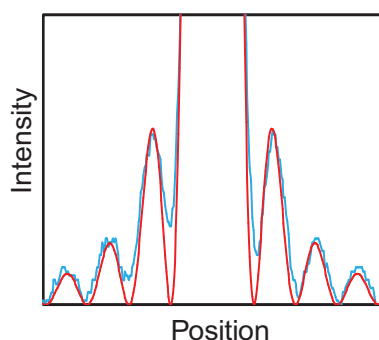


図 2 20 μm 白金アパーチャーを用いた液体ビームの干渉縞の強度分布。光の波長は 266 nm、液体ビームには 1,3-ベンゼンジオールを用いた。横軸は 3 次回折光の位置が入る様スケールを合わせた。(青: 実験値、赤: 計算値)

距離(mm)	写真	干渉縞
0.1		なし
0.2		なし
0.3		あり (16 μm)
0.4		あり (17 μm)
0.5		あり (17 μm)
0.6		あり (17 μm)
0.7		あり (17 μm)
0.8		あり (17 μm)
0.9		あり (17 μm)
1.0		あり (17 μm)
1.1		あり (17 μm)
1.2		あり (17 μm)
1.3		あり (17 μm)
1.4		あり (17 μm)
1.5		あり (17 μm)
1.6		あり (17 μm)
1.7		あり (17 μm)
1.8		あり (17 μm)
1.9		あり (17 μm)
2.0		あり (17 μm)
2.2		なし
2.4		なし
3.0		なし

図 3 発射口を 0 mm とおいたときの液体ビームの距離と性質

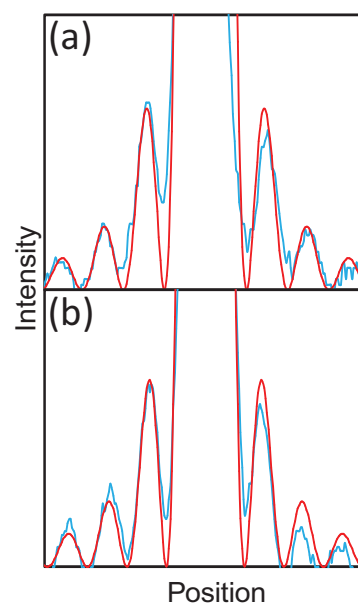


図 4 (a)8 μm キャピラリーを用いた液体ビームの干渉縞の強度分布。光の波長は 193 nm、液体ビームには NaI を用いた。(b)5 μm キャピラリーを用いた液体ビームの干渉縞の強度分布。光の波長は 225 nm、液体ビームには NaI を用いた。