



目 次

分析機器解説シリーズ(35) . . . . .	2
イメージングプレート	
トピックス . . . . .	7
合成二分子膜に固定化したタンパク質の配向評価	
お知らせ . . . . .	11

イメージング・プレート

工学部 高 原 淳

1. はじめに

種々の材料の構造解析にはX線回折データ収集における2次元検出器の利用が有効である。さらに動的現象の測定のためにより短時間で高感度の測定が要求されている。二次元検出法として従来からのX線フィルム、二次元PSPC(位置敏感比例計数検出器)、線テレビ、イメージング・プレート(Imaging Plate, IP)があげられる。この中でIPはデジタルX線医用画像診断のために開発された新しい二次元X線検出器であり、他の検出器に比べて感度、直線性、ダイナミックレンジに優れている。本稿ではIPの基本的な原理と動的現象の測定への応用例について紹介する。

2. 原 理

IPの商品名をもつ輝尽性蛍光フィルムは従来の線フィルムとは全く異なる原理に基づく二次元感光体である。図1はIPの原理図である<sup>1,2)</sup>。IPはEu<sup>2+</sup>をドープしたBaFBr粉末結晶蛍光体をフィルム上に塗布したものである。この蛍光体にX線を照射すると蛍光体中にFセンターと呼ばれる準安定な色中心が生成される。この色中心は、室温で数時間安定である。これにHe-Neレーザー光を照射するとX線の強度に比例した光輝尽性発光(photostimulated luminescence)を生じる。He-Neレーザー照射後残るIPの色中心は、白色可視光の照射により完全に消去でき、1枚のフィルムを繰り返し使用できる。IPは非常に高感度で、X線強度が5-6桁変化しても出力が比例するという大きなダイナミックレンジを有している。これはX線テレビや線フィルムの2.5桁に比べると著しく大きな値である。また感度はX線フィルムの10倍以上で位置分解能も優れている。またX線の強度分布がデジタル量で得られるので、コンピュータにデータを転送することにより種々の解析が容易である。すなわち暗室とデンシトメーター無しに定量的なデータの評価が可能である。さらにIPを用いることにより試料へのX線照射量を少なくすることができるため短時間の測定が可能となり、いままでX線フィルムでは追えなかった動的な現象の測定が検討されている。

IPの二次元線検出器としての重要な部分は読みとり装置である。読みとり部は、画像読みとり部、コントローラー、コンピューターから成る。画像の読みとりは、X線画像を記録したIPをHe-Neレーザーで二次元走査して、発光する二次励起スペクトルを光電子増倍管で測定すること

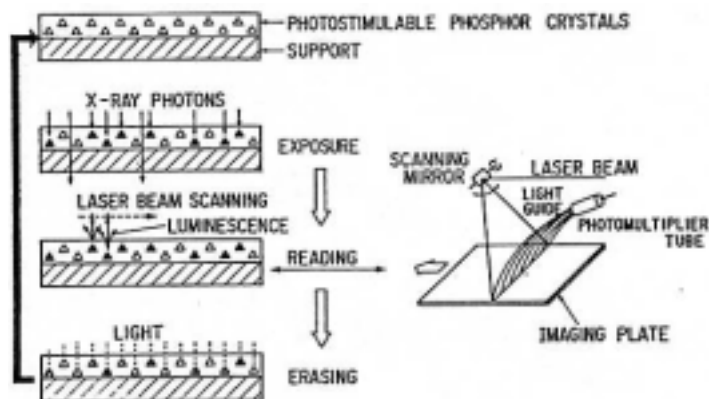


図1 イメージング・プレート(IP)の原理<sup>2)</sup>

により行う。さらにこの信号をアナログ - デジタル変換をし、デジタル信号はコンピュータに転送される。コンピュータでは2次元画像の再構成、強度データに対する種々の演算処理を行う。

IPのX線回折への応用はまず、生体高分子の分野で行われた。生体高分子の結晶は回折点の密度が高いため線フィルムを用いたデータ測定が行われてきた。しかしながらその感度は低く、長時間の露光を必要とし、またフィルムのダイナミックレンジが狭いため、5桁にも及ぶ結晶の回折強度範囲を精度良く測定するためには複数のフィルムを重ねて回折像を得る必要があった。これはデータ解析を煩雑にし精度の低下の原因となるものである。IPはこれらの欠点をすべて解消するものである。IPを用いたアミノ基転移酵素の結晶構造解析<sup>3)</sup>、ミオグロビン結晶における鉄原子の位置の決定<sup>4)</sup>が報告されている。

### 3. 時分割測定

動的な現象の評価のためには、露光機構にメカニカルな時分割機能をそなえる必要がある。図2は時分割測定のための露光機構の一例である<sup>5)</sup>。8面のIPを円筒の回りに張り合わせ、それぞれのIPを6または8面に分割する。IPの左右への移動と回転による交換により64面のX線像が記録可能である。この場合のIP内の移動速度は40mm/sec、IP交換時間は2秒である。

図3は時分割測定の高分子の小角X線散乱測定への応用例である。橋本らは図3(a)で示すような散乱系で試料に周期的なズリ変形を与え構造の動的応答挙動をIPを用いて実時間測定した<sup>6)</sup>。試料としては図3(b)に示すような球状のポリスチレンドメインを有するスチレン - エチレンプロピレンジブロックコポリマーを用いた。図3(c)は小角X線散乱像のズリ変形に対する変化のIPによる測定例である。変形速度は $\dot{\epsilon} = 0.0149\text{sec}^{-1}$ で、各散乱像は0、 $1/2$ 、 $3/2$ の各位相で900秒間積算したものである。図3(c)より格子は外部から与えられたズリ変形とほぼ同位

相で観測されることが明かである。このように IP は動的現象の測定に極めて有効である。

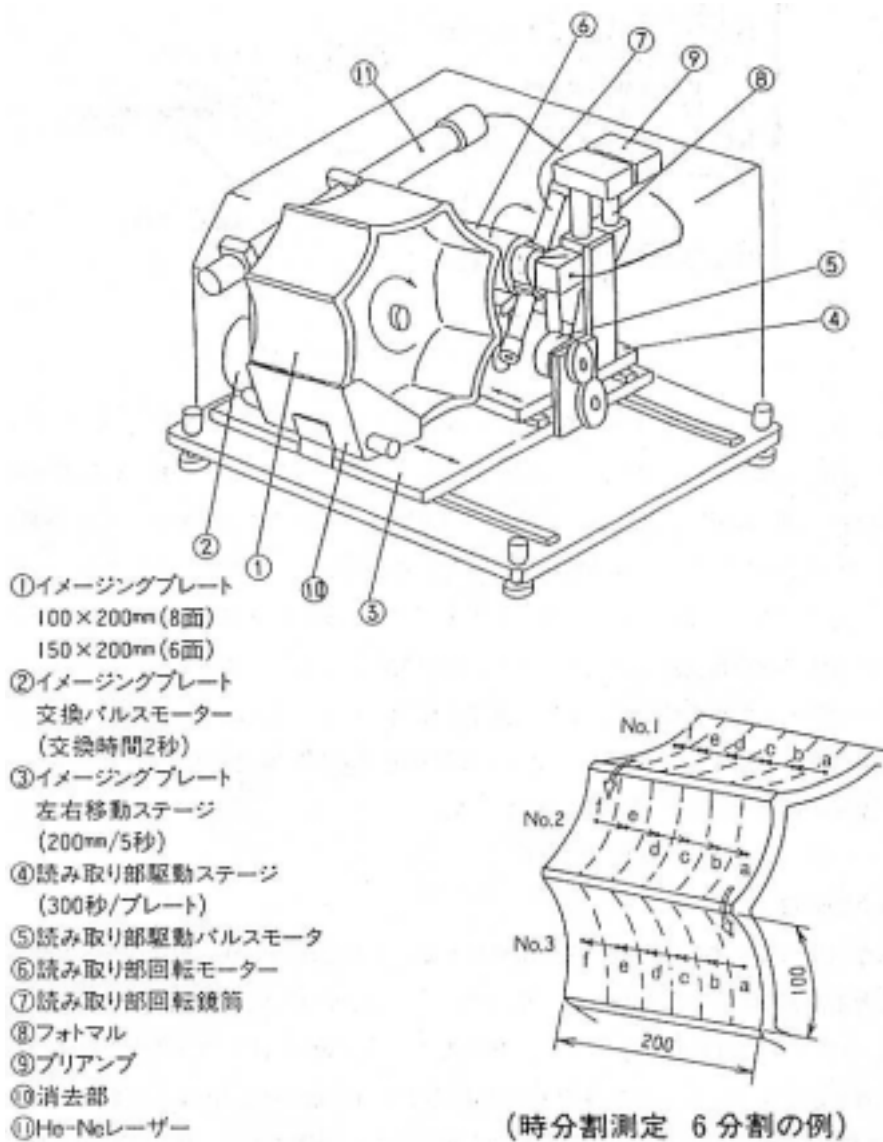
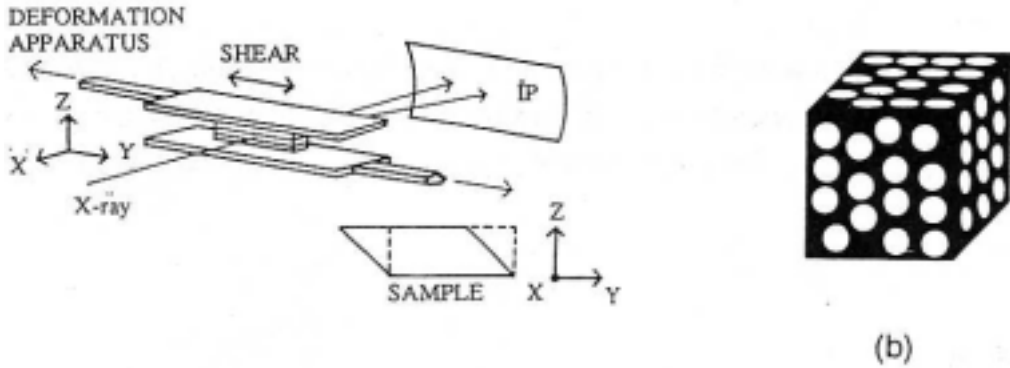
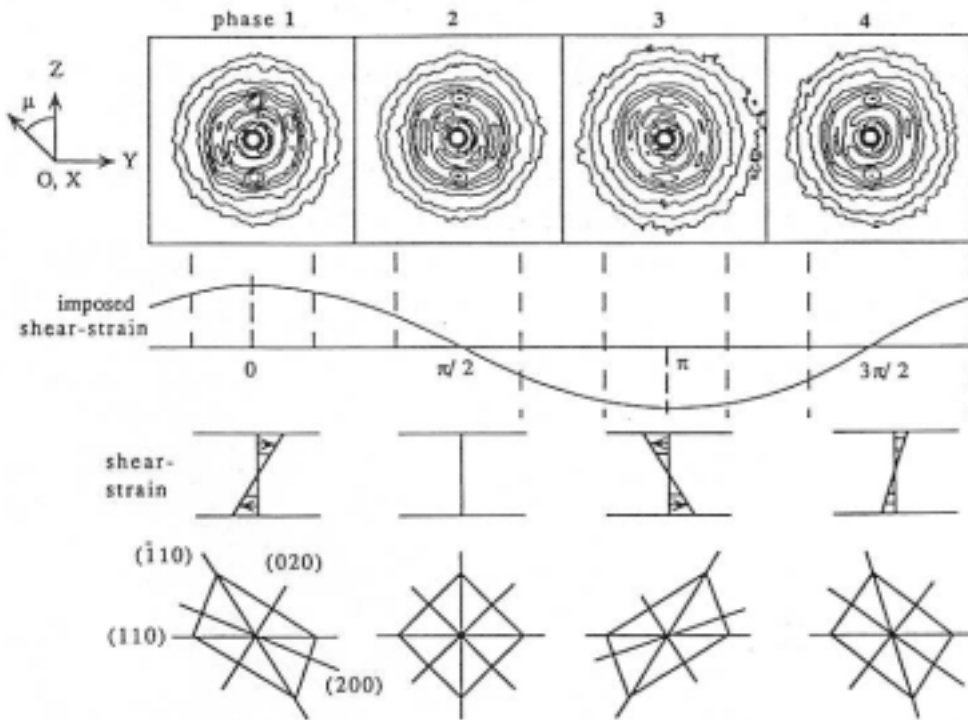


図2 イメージング・プレートによる時分割測定装置<sup>5)</sup>



(a)

(b)



(c)

図3 イメージングプレートの時分割小角X線散乱への応用例<sup>6)</sup>

- (a) ずり変形下での小角X線散乱測定系
- (b) スチレン エチレンプロピレンジブロックコポリマーのドメイン構造 白い部分がポリスチレン相に対応する (ポリスチレンの体積分率 = .103)
- (c) ずり変形下での小角X線散乱像と対応する格子の変形

#### 4 . おわりに

以上のように IP は高感度でダイナミックレンジに優れており小角、広角の X 線回折測定にきわめて有効な二次元 X 線検出器である。強力な X 線源を用いれば数秒の露光時間でも二次元強度分布を得ることができ、今後種々の分野で普及し材料の構造解析への応用展開が期待される。

#### 参考文献

- 1) 柴田 淳、理学電機ジャーナル、21 , 34 ( 1990) .
- 2) 神谷、雨宮、宮原、日本結晶学会誌、28 , 350 ( 1986) .
- 3) N . Sakabe , J . App1 . Cryst . , 16 , 542 ( 1983) .
- 4) N . Kamiya , T . Higashi , K . Sakabe , and N . Sakabe , Photon Factory Activity y Report , 238 ( 1984 / 85) .
- 5) MAC SCIENCE , X 線テクニカルレポート、No2 , P.7 .
- 6) 岡本、西条、橋本、Polym . Prepr . , Japan, 40 , 4035 ( 1991) .

合成二分子膜に固定化したタンパク質の配向評価

工学部 浜 地 格

タンパク質、酵素や抗体などの生体高分子を単分子膜や二分子膜などの超薄膜を用いて目的に応じて配向組織化しようという試みが国内外で活発に研究され始めた<sup>1)</sup>。その一般的な方法論の確立のためには、タンパク質と膜あるいはタンパク質とタンパク質との相互作用を分子レベルで解明することが必要不可欠であると考えられている。我々のグループでは合成二分子膜といくつかのヘムタンパク質を用いてこれらの相互作用について検討しているが<sup>2-4)</sup>、ここでは低温電子スピン共鳴分光法 (ESR) を用いたタンパク質の配向評価法について簡単に紹介する。なお超薄膜に固定化されたタンパク質の配向はこの他に、偏光スペクトル、透過型あるいは走査型電子顕微鏡 (TEM や SEM)、走査トンネル顕微鏡 (STM) などの方法でも検討されている。

我々が用いているミオグロビンというヘムタンパク質は一個のヘム (鉄ポルフィリン) を有するので、その配向を調べればタンパク質全体の分子配向を評価することができる<sup>5)</sup>。幸い鉄ポルフィリンは三価の状態では不対電子を 1 個あるいは 5 個持ち ESR 活性である。結晶などの配向試料においては ESR の  $g$  値は試料と磁場の方向によって変化することが知られており、試料と磁場の角度を変えながら測定することになる。

また鉄の場合、緩和時間が速いので室温から液体窒素温度では明瞭なシグナルが得られにくく液体ヘリウム温度近く (約 4K) で測定を行っている。図 1 の様に、ヘリウムボンベの圧力を利用して気化させた液体ヘリウムをクライオスタットをつけたキャビティ内に吹き付けることによって試料を冷却した<sup>6)</sup>。測定試料は石英棒の先の石英板にシリコングリース等を用いて張り付け、この棒を磁場の中で回転させて角度を調整した<sup>7)</sup>。

図 2 に無配向試料とミオグロビンをリン酸型合成二分子膜フィルムに固定化した試料の ESR スペクトルを示した。無配向試料 (a) ではスペクトルは試料と磁場の角度に依存しない等方的なものである。これに対してフィルム内のスペクトル (b - d) は磁場中での角度に大きく依存した。ミオグロビンの場合、 $g$  平行成分 ( $g_z = 2.0$ ) はポルフィリンの分子軸に平行な (即ちポルフィリン面に垂直な)  $g$  成分であり、 $g$  垂直成分 ( $g_x = g_y = 6.0$ ) は分子軸に平行な (即ちポルフィリン平面内の)  $g$  成分と帰属されるので、この巨視的な異方性から二分子膜薄膜内でのタンパク質の配向を評価できる (模式図を図 3 に示す)。

このような測定から、合成二分子膜がタンパク質の配向固定化にきわめて優れた素材であることが分かってきた。またタンパク質の二分子膜上での配向固定化の主たる制御因子が静電引力と

疎水の相互作用に整理できることも明かとなりつつある<sup>8)</sup>。二分子膜の分子設計とタンパク質の設計によってタンパク質を人工的に組織化する手がかりがようやくつかめてきた。

## 文 献

1. 吉野泰二、雀部博之、表面、28, 170 (1990)
2. Hamachi, S. Noda, T. Kunitake, J. Am. Chem. Soc., 112, 6745 (1990)
3. Hamachi, T. Honda, S. Noda, T. Kunitake, Chem. Lett., 1121 (1991)
4. Hamachi, S. Noda, T. Kunitake, J. Am. Chem. Soc., 113, 9625 (1991)
5. The Porphyrin, vol4, D. Dolphin ed., (1979), Academic Press, N. Y.
6. 大矢博昭、山内 淳、電子スピン共鳴、講談社
7. Y. Ishikawa, T. Kunitake, J. Am. Chem. Soc., 113, 621 (1991)
8. 浜地、国武、第7回生体機能関連シンポ要旨、(1992)

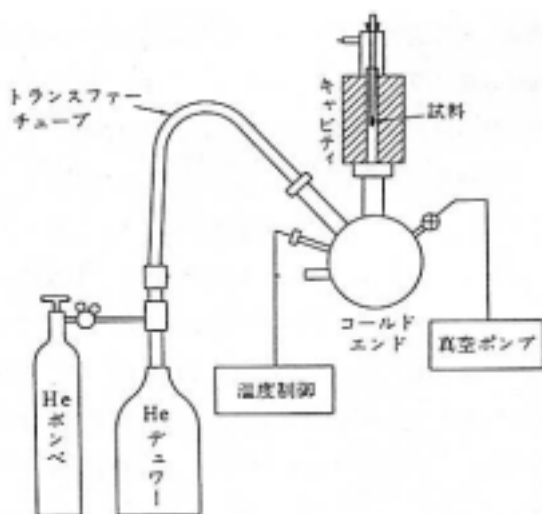


図1. 液体ヘリウムの移送制御による温度変化装置<sup>6)</sup>



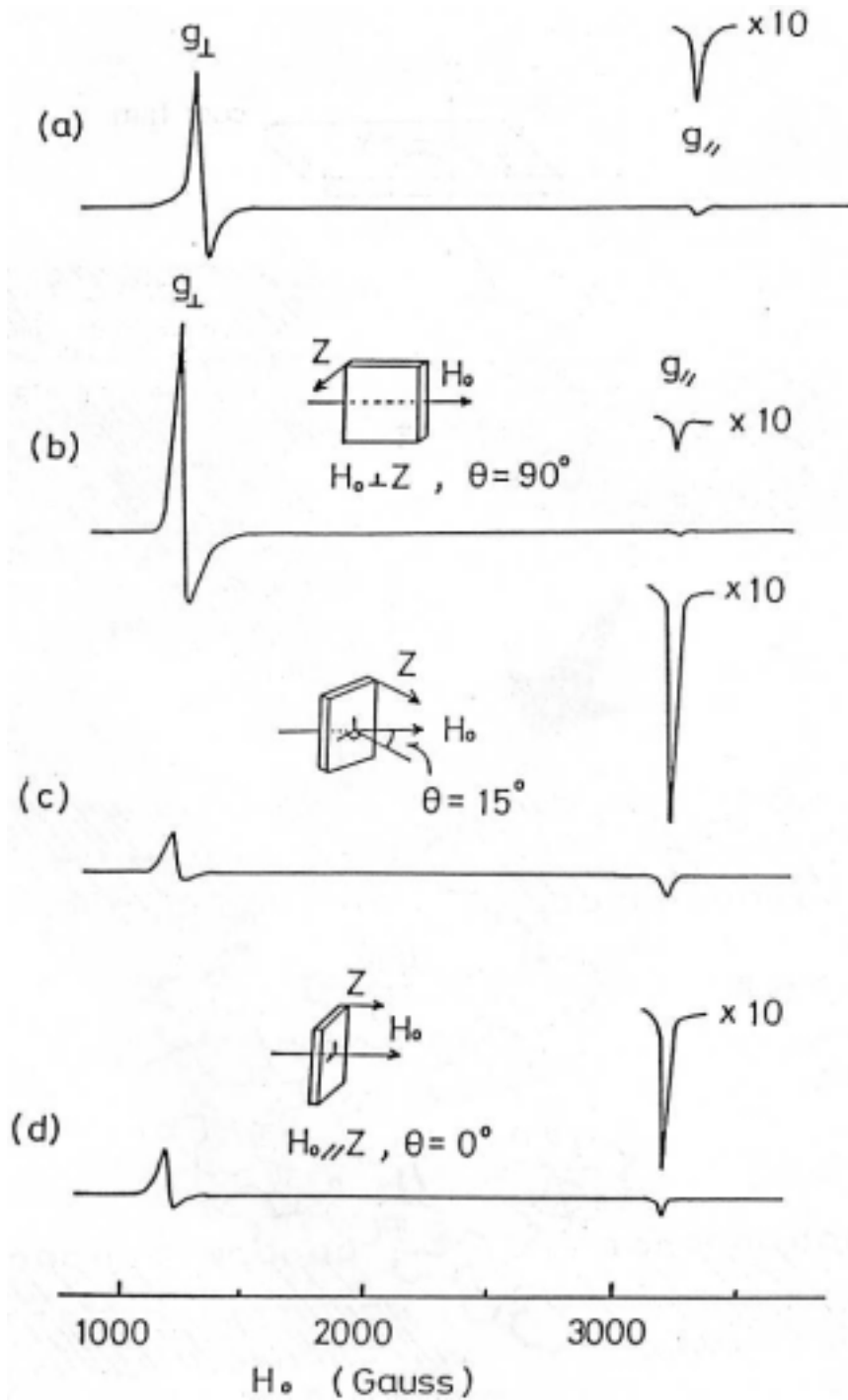


図2. ミオグロビン粉末(a) およびキャストフィルム(b-d)のヘリウム温度(4~5)でのESRスペクトル<sup>2)</sup>。

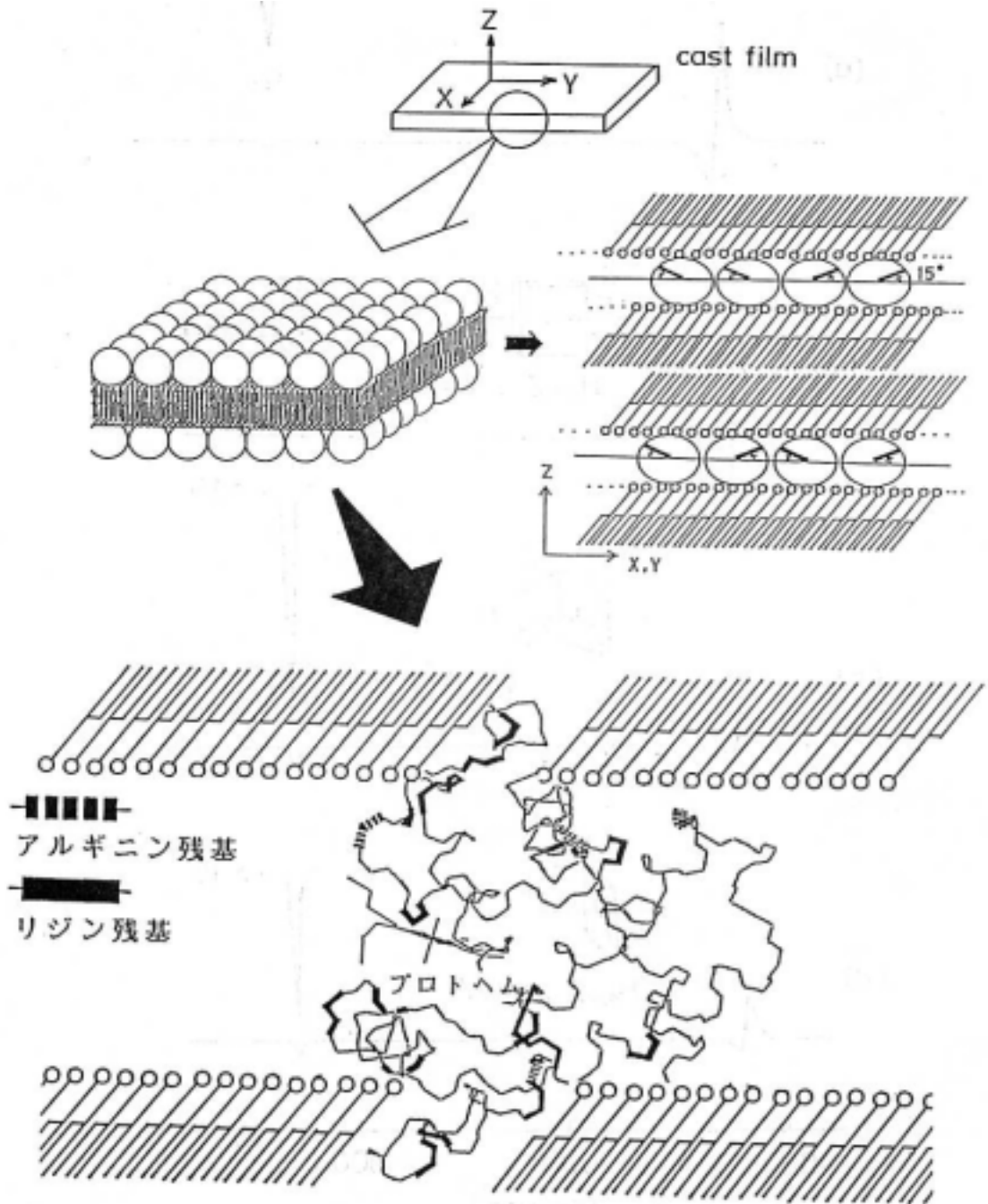


図3. ミオグロビンの配向固定化の模式図

## お 知 ら せ

### 新設置の照会

前号でお知らせしました X 線回折計（島津 XD - DI）は 2 月に搬入、調整が完了し、現在稼動中です。仕様は以下の通りです。

#### 1 X 線管球

- |           |                          |
|-----------|--------------------------|
| (1) 形 式   | 密封形 ショートショート             |
| (2) 陽 極   | Cu                       |
| (3) 焦点サイズ | 0.4 × 12mm（高出力ファインフォーカス） |
| (4) 最大負荷  | 2.2kW                    |

#### 2 X 線発生部

- |                |  |
|----------------|--|
| (1) 最大出力       | 3kW  |
| (2) 制御方式       | 2 次側検出、1 次側制御、サイリスタ方式  |
| (3) 管電圧・管電流安定度 | ±0.01%（入力電圧変動 10% に対し）                                       |
| (4) 管電圧設定      | 20 ~ 60kV（5kV ステップ）  |
| (5) 管電流設定      | 5 ~ 100mA（5mA ステップ）  |
| (6) X 線管球保護機構  | 過負荷保護回路 1 ~ 3kW（0.5kW ステップ）<br>過電圧過電流保護回路付き<br>冷却水水量不足保護回路付き |

#### 3 ゴニオメータ部（VG - 207R）

- |              |  |
|--------------|--|
| (1) 形 式      | 横形                                       |
| (2) ゴニオメータ半径 | 180mm                                    |
| (3) 最小ステップ角度 | 0.005°（2 軸）、0.0025°（ 軸）                  |
| (4) 角度再現性    | ±0.001°（2 軸）                             |
| (5) 走査角度範囲   | - 30° ~ + 163°（2 軸）<br>- 15° ~ + 82°（ 軸） |
| (6) 走査方式     | - 2 連動、 単独、 2 単独                         |
| (7) 駆動方式     | ステッピングモータ駆動（ 、 2 軸共）                     |
| (8) 早送り速度    | 300° / min（2 軸）、150° / min（ 軸）           |

- |               |       |  |           |
|---------------|-------|--|-----------|
| (9) 定速送り速度    | (2 軸) | 8, 4, 2, 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32            | °/min     |
|               | ( 軸 ) | 4, 2, 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64         | °/min     |
| (10) ステップ送り幅  | (2 軸) | 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1        | °         |
|               | ( 軸 ) | 0.0025, 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 | °         |
| (11) スリット     |       |  |           |
| 発散スリット        |       | 1°, 2°, 4°                                       | および 0.1mm |
| 空気散乱防止スリット    |       | 1°, 2°, 4°                                       |           |
| 検出スリット        |       | 0.15mm, 0.3mm, 0.6mm                             |           |
| (12) スリット位置調整 |       | DC モータによるリモートコントロール                              |           |
| (13) 管球ホルダ    |       | ゴニオメータと一体形                                       |           |
| (14) X線シャッタ   |       | 電磁方式 (左右各1ヶ所)                                    |           |
| (15) テーブル面からの | 線窓高さ  | 250mm  |           |
| (16) X線取り出し角度 |       | 6°   |           |
| (17) フィルタ     |       | Ni (Cu 管球用標準)                                    |           |
| (18) モノクロメータ  |       | グラフィイトモノクロメータ GMC - 4                            |           |

#### 4 制御・計数部

- |                  |  |   |     |
|------------------|--|---|-----|
| (1) ゴニオメータコントロール |  |   |     |
| , 2 角度表示         |  | 6桁LEDによる(同時表示可能)                                  |     |
| 走査モード            |  | AUTO (GRS マッチングスタート)                              |     |
|                  |  | MANU (パネルスイッチによる手動制御)                             |     |
|                  |  | CAL (ゴニオメータの自動初期設定)                               |     |
| 走査方式の切り替え        |  | パネルスイッチによる  |     |
|                  |  | (連続送り、ステップスキャンの切り替え)                              |     |
| (2) スケラ・タイマ部     |  |   |     |
| 表示               |  | 6桁LEDによる(計数值、時間)                                  |     |
| プリセットタイム         |  | 0.4, 1, 2, 4, 10, 20, 40, 100, 200, 400, 1000sec  |     |
| (3) レートメータ部      |  |   |     |
| 時定数設定            |  | 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 10, 20,             | sec |
| フルスケールレンジ        |  | 100, 200, 500, 1k, 2k, 5k, 10k, 20k, 50k, 100kcps |     |

- |                 |        |                    |
|-----------------|--------|--------------------|
| (4) 検出器         |        |                    |
|                 | シンチレータ | NaI                |
|                 | 光電子倍增管 | 9924B              |
|                 | 出力極性   | 負                  |
| (5) 検出器用高圧電源    |        | 250 ~ 1500V        |
| (6) パルスハイトアナライザ |        | ベ - スラインおよびウィンドウ設定 |

#### 5 防 線収納ケース (XD - DIW 用)

- |              |           |                                    |
|--------------|-----------|------------------------------------|
| (1) 寸 法      |           | 1655 (幅) × 850 (奥行) × 1300 (高さ) mm |
| (2) テーブル面高さ  |           | 700mm                              |
| (3) 線しゃへい    |           |                                    |
|              | 前面 (観察窓部) | 鉛入り透明アクリル板 厚さ 7mm                  |
|              | (その他)     | 軟鋼板 厚さ 1mm                         |
|              | 側面        | 軟鋼板 厚さ 1mm (2mm 厚鉛板付き)             |
|              | 後面        | 軟鋼板 厚さ 1mm                         |
|              | 上面 (観察窓部) | 鉛入り透明アクリル版 厚さ 7mm                  |
|              | (その他)     | 軟鋼板 厚さ 1mm                         |
| (4) 表面線量率    |           | 0.01mSv/h 以下 (最大出力時)               |
| (5) X線インタロック |           | 各カバーの閉状態を検出して、線管球ホルダ部の線シャッタ窓が開く。   |

#### 6 本体制御・データ処理部 (DP - DI システム)

- |              |            |                      |
|--------------|------------|----------------------|
| (1) ハードウェア構成 |            |                      |
|              | コンピュータ本体   | PC9801-ES シリーズ       |
|              | ディスプレイ     | 14 インチ、カラー           |
|              | プリンタ       | LP - 2000 レーザタイプ記録方式 |
|              | テーブル       | SSD-021W             |
| (2) ハードウェア仕様 |            |                      |
|              | C P U      | 386SX (32bit)        |
|              | メインメモリ容量   | 1.6M バイト             |
|              | ディスプレイ表示機能 | 640 × 400 ドット        |
|              | キーボード      | JIS 標準配列準拠           |

補助記憶装置	IM バイトタイプ 3.5 インチフロッピィディスク 2 台内蔵 80M バイトタイプ 3.5 インチ固定ディスク 1 台
用紙サイズ	A4 (210mm × 297mm)
ドット密度	300 ドット/インチ
印字速度	6 枚/分

(3) 本体制御ソフトウェア

制御モード	シングルスキャン マルチスキャン ゴニオメータハンドリング
制御対象	ゴニオメータ , 2 軸 スケーラ・タイマ 線シャッタの OPEN / CLOSE

(4) データ処理ソフトウェア

基本データ処理	スムージング バックグラウンドの除去 $K_1, K_2$ の分離 ピークサーチ 半価幅、積分強度計算
データファイル ハンドリング	生データファイルの編集
ピークデータファイル ハンドリング	ピークデータファイルの編集
データ検索	JCPDS データベースの作成 (ユーザーによる入力にて) 目視検索
定量計算	検量線作成、定量計算
ゴニオメータ調整	ゴニオメータの 0 度調整
ユーティリティ	データディスクの初期化 ファイルのコピー、移動、削除

7 オプションソフトウェア

- ・自動検策 (JCPPS ファイル付)
- ・環境定量分析
- ・残留オーステナイト定量分析
- ・粒子径、格子歪の計算
- ・結晶化度
- ・応力測定解析
- ・格子定数の精密化
- ・結晶系の決定
- ・多重ピーク分離
- ・粒径分布
- ・動径分布