

SPRING-8 20140913 放射光構造生物学研究会  
第3回研究会@東京大学・本郷キャンパス

## 新しくなったBL41XU

SPring-8/JASRI  
タンパク質結晶解析推進室  
長谷川和也、○奥村英夫

SPRING-8

### 内容

- BL41XUの高度化  
- 集光光学系、検出器の更新
- データ測定
- まとめ

SPRING-8

### BL41XUの高度化

目的: 解析対象の高難度化への対応  
測定対象の微小化、回折能の低い結晶の増加

- 分解能の向上  
→ ビーム強度UP
- 10 $\mu$ m以下の結晶からのデータ測定  
→ ビームの微小化
- 構造解析のスループット向上  
→ スクリーニング、迅速データ測定

集光光学系、回折計、  
検出器を一新

SPRING-8

### 新しい集光光学系のデザイン

#### 2段集光光学系

0m 28.9m 35.9m 41.8m 47.15m 52.5m 53m 54m

特徴

1. 楕円ミラーの利用(ミラーの曲率は固定)
2. ビームサイズの変更
  - スリットサイズの変更
  - 試料位置を焦点位置から移動
  - 楕円ミラーの角度の変更
3. 波長領域 0.7Å-1.9Åをカバー

SPRING-8

### BL41XUの高度化

迅速かつ高精度なデータ測定を実現するため、  
集光光学系・回折計・検出器を一新

Before: 光学ハッチ, シャッター, KBRミラー, 回折計・検出器

After: 分光器, シャッター, 第1水平集光ミラー, 仮想光源スリット, KBRミラー, 回折計・検出器

楕円ミラーを用いた新規2段集光光学系 Built

Scrap - 2014年1-3月

SPRING-8

### 第1水平集光ミラー・仮想光源スリット

第1水平集光ミラー  
第1水平集光ミラーチャンバー  
光学ハッチ  
高純度スリット (仮想光源)  
実験ハッチ1

実験ハッチ1は、現在、高エネルギーモード対応に向けて測定系を構築中

SPRING-8

### KB ミラー

回折計  
KBRミラーチャンバー  
検出器  
検出器モニター  
ミラーへの入射制限スリット  
楕円光ミラー  
楕円光ミラー

SPRING-8

### 回折計の高度化

真空チャンバー (スリット, アッパース, シャッター)  
検出器  
サンプルチェンジャー SPACE  
ゴニオメータ  
回折計

試料をデフォーカス位置への試料へ移動させるために、最大60mm移動することが可能。

SPACE は照射位置の等価位置の試料位置に設定できるよう、照射位置上に設置。

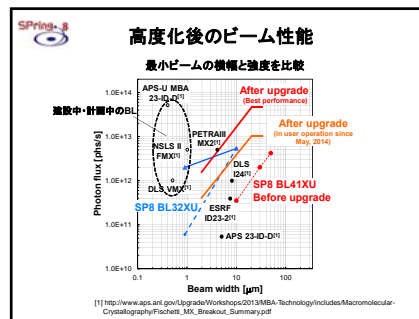
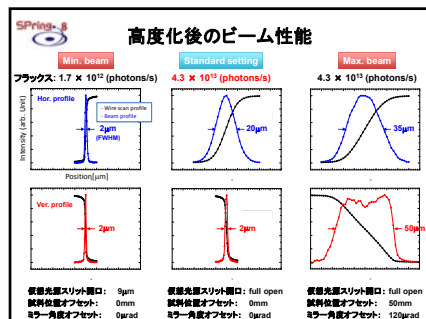
回折計の台と天板は、並進を妨ぐために花崗岩より作られている。

検出器  
X線  
試料背面

SPRING-8

### 新しく導入した回折計

検出器 PILATUS3 5M  
ゴニオメータ  
SPACE  
KBRミラー  
検出器  
XAFS検出器  
回折計  
検出器モニター  
XAFS検出器  
回折計  
検出器モニター  
XAFS検出器  
回折計  
検出器モニター  
XAFS検出器  
回折計



### 検出器PILATUS3 6Mの導入

検出器モジュール数	5 × 12
蛍光面積 [mm <sup>2</sup> ]	423.6 (W) × 434.6 (H)
画素サイズ [µm <sup>2</sup> ]	172 × 172
画素数	2463 × 2527
最大フレームレート [Hz]	100
読み取り時間 [ms]	0.95

シャッターレスデータ測定  
 ・ シャッター - ゴニオの同期精度が不要であるため、長時間露光が可能  
 ・ 検出器組み出し時に検出器ヘッドが壊れ  
 ・ データ測定の高速度化  
 ・ 微小角振動法を用いた高SN測定

平成28年5月よりユーザー提供を開始

### データ測定@BL41XU

### ビームライン運用

- 高速化に伴い、1.5シフト配分から1シフト配分へ移行
  - 第1シフト: 9:30 ~ 17:30
  - 第2シフト: 17:30 ~ 25:30
  - 第3シフト: 25:30 ~ 9:30 (翌朝)
- これまでと同じく、ビームライン制御ソフトBSSによる操作
- 全ユーザーとも原則サンプルチェンジャーSPACEを使用したサンプルマウント
  - SPACEへは4個のUni-puckを搭載可能

- 設定可能波長: 0.7Å ~ 1.9Å (1.5Å以上はスタッフ調整が必要)
- ビームサイズ:
  - H 12 x W 20 µm<sup>2</sup> (~1.0x10<sup>13</sup>photons/sec @ 1 Å)
  - H 12 x W 8 µm<sup>2</sup> (~3.4x10<sup>12</sup>photons/sec @ 1 Å)
  - H 12 x W 3.5 µm<sup>2</sup> (~1.5x10<sup>12</sup>photons/sec @ 1 Å)
  - H 12 x W 2 µm<sup>2</sup> (~4.4x10<sup>11</sup>photons/sec @ 1 Å) Min.
  - H 25 x W 21 µm<sup>2</sup> (~1.0x10<sup>13</sup>photons/sec @ 1 Å)
  - H 24 x W 9 µm<sup>2</sup> (~3.4x10<sup>12</sup>photons/sec @ 1 Å)
  - H 35 x W 22 µm<sup>2</sup> (~1.0x10<sup>13</sup>photons/sec @ 1 Å) Max.
  - H 35 x W 13 µm<sup>2</sup> (~3.4x10<sup>12</sup>photons/sec @ 1 Å)

- アッテネータ: none, AI 80 ~ 7,270 µm (透過率 0.75 ~ 0.75x10<sup>-11</sup> @ 波長1Å)
- カメラ距離: 210mm~800mm (測定可能分解能 1.28Å @ 波長1Å, 210mm) ※210mm以下のカメラ長は要相談
- XAFS: 随時測定可能

### 現在の標準測定条件

- スナップショット
  - 波長1Å, 露光時間0.5秒, 振動角0.5° (振動撮影), アッテネータ AI 800~1200µm
- 連続データ測定 (振動測定)
  - 波長1Å, 露光時間0.5秒, 振動角0.5° (振動撮影)
  - イメージ間待機時間: ~2秒
- 連続データ測定 (シャッターレス測定)
  - 波長1Å, 露光時間0.1秒 (最高10Hz), ステップ角0.5°
  - 読み取り時間: 0.95ms
  - スナップショットの結果からアッテネータ厚の調整が必要

### テストデータ測定①

標準結果(蛋白リゾチーム)  
 波長1Å, ビームサイズ 30 × 30µm<sup>2</sup>  
 露光時間 0.1s, 振動角0.5°, 回折画像数 360  
 測定時間 36秒

Space group	P4 <sub>2</sub> 2 <sub>1</sub>
Unit cell parameters (Å)	a=1072.50, b=37.14
Resolution (Å)	100 - 1.2 (1.27 - 1.2)
No. of observations	344,088 (2,651)
Unique reflections	30,092 (2,098)
Redundancy	11.4 (5.1*)
Completeness (%)	91.5 (95.7)
R <sub>int</sub> (%)	4.9 (46.4)
<I/σ>	33.9 (4.0)
CC <sub>1/2</sub>	100 (89.9)
Mosflor	0.13

迅速かつ高精度なデータ測定を実現

### 高速データ測定@BL41XU

単白リソチームの回折データ測定

露光時間 0.1秒, 角度 0.5°, 360枚  
測定時間 36秒

### テストデータ測定②

チトクロムc酸化酵素

波長1 Å, ビームサイズ 30 × 30 μm<sup>2</sup>  
露光時間 0.1s, 振動角 0.3°, 回折画像数 450  
測定時間 45秒

Space group	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Unit cell parameters (Å)	a=178.22, b=183.14, c=205.47
Resolution (Å)	199 → 2.1 (2.18 → 2.1)
No. of observations	1,963,188 (271,819)
Unique reflections	389,566 (60,464)
Redundancy	5.2 (6.2)
Completeness (%)	98.8 (99.7)
R <sub>int</sub> (%)	5.1 (43.7)
I/σ(I)	21.8 (4.3)
CC <sub>1/2</sub>	99.9 (94.4)
Mosaicity	0.15

### 検出器読み取り時間の影響

0.01秒露光(100Hz)での運用についてはスタディ中

### Diffraction Scan

- Oscillation測定
  - これまでと同じ設定方法での測定も可能。
  - 最短露光時間は0.5秒。
- Shutterless測定
  - "Shutterless & fixed spindle"にチェックをいれて設定 (oscillationなし)。
  - 露光時間は1秒当りの測定枚数 (Hz) で設定。  
最高速度は100Hz (0.01秒露光/枚)。

### 回折自動判定ソフト SHIKA

by 山下さん@理研

- 全自動でスポットを検出し、回折能の大きい位置を推奨化するシステムを開発。
- 結晶センタリングに関わる労力を大幅に削減。

SHIKA (Spot-wo Hiroto Ichiwo Kimeru Application)

KUMAIに産標転送  
データ収集ストラテジを作成 (BL41XUではテスト運用)

### SHIKAの特徴

- 回折スキャンの実行を自動で認識し作業フォルダを切り替え・処理を開始
- 並列処理による高速な回折判定
- 回折写真とスポット位置の表示
- 目視による確認が容易
- KUMAへ簡便にゴニオ座標・角度を転送
- HTMLレポートの作成 (お持ち帰り用)
- クリックによるプロット/写真の切り替えが可能

### まとめ

- 2014年5月16日よりユーザーへ提供開始した
- 世界最高レベルの高フラックスタンパク質結晶解析ビームラインとなった
  - フォトンフラックス:  $1.7 \times 10^{12} \sim 4.3 \times 10^{13}$  photons/s
  - 幅広い可変ビームサイズ: 最小  $2 \times 2$  - 最大  $35 \times 50 \mu\text{m}^2$  (実運用では  $12 \times 2 \sim 35 \times 22 \mu\text{m}^2$ )
- 迅速かつ高精度なデータ測定
  - 高フラックスビームとPILATUS検出器の組み合わせにより、精密なデータ測定が1分以内で測定可能に
  - 広範囲のDiffraction ScanとSHIKAの併用により、照射位置探索とセンタリングが容易に

### 謝辞 (敬称略)

(公財)高輝度光科学研究センター タンパク質結晶解析推進室	(公財)高輝度光科学研究センター 光電子学部門
馬場 清善	湯本 博勝
水野 伸宏	仙波 泰徳
熊坂 崇	小山 貴久
	竹内 智之
	山崎 祐史
	大掛 治彦
(独)連化学研究所 放射光科学総合研究センター ビームライン推進研究部	制御・情報部門
平田 邦生	吉川 行人
山下 浩太郎	
上野 剛	利用研究促進部門
村上 博則	福居 知樹
山本 雅貴	早賀 紀久男

本開発研究の一部は、文部科学省「創発型先端技術基盤プラットフォーム事業」の助成を受けて実施しました。