SPring-8 構造生物学ビームラインにおける 最新の自動測定／遠隔測定環境

(公財) 高輝度光科学研究センター 馬場清喜, 水野伸宏

Seiki BABA and Nobuhiro MIZUNO: Automatic Data Collection and Remote-Measurement Systems at SPring-8 MX Beamlines

Synchrotron beamlines are now required to provide an experimental environment that supports digital transformation. Many of the beamlines for macromolecular crystals around the world now employ the systems for automated data acquisition and remote access. At SPring-8, both systems have been newly established with brilliant undulator beamlines to provide rapid and accurate measurements. Here, we will introduce these systems that can be used without visiting the site.

1. 序 文

SPring-8には兼用も含めて7本のタンパク質結晶解析ビームライン (Macromolecular Crystallography (MX) ビームライン) があります。その中でも挿入光源 (ID) ビームラインは、高強度ビームと高速検出器を整備し、迅速かつ高精度の測定が可能となっています。なかでも凍結結晶からの構造解析は測定のルーチン化が進み、データ収集からデータの解析までを自動化して解析のスピードを加速することや、1つの試料について詳細な条件を検討する測定も求められています。本稿では、これらのニーズに応えるために開発した、測定の高効率化を進める自動測定、遠隔から来所不要で測定を可能とする遠隔測定について紹介します。さらに詳しい情報は、JASRIタンパク質結晶解析推進室HP (<http://bioxtal.spring8.or.jp/>) をご覧ください。

2. 自動測定

IDビームラインBL32XU, BL45XU, BL41XUでの自動測定は、理研ビームラインBL32XUで開発された自動データ収集／データ処理システムZOO¹⁾を導入することで実現しています。ZOOシステムは、1.1. SPACEによる試料の自動交換、1.2. 結晶位置を決定するX線スキャンと放射線損傷を考慮したデータ収集、1.3. データ処理の機能を統合し、自動かつシーケンシャルに測定が行われます。ユーザーは、設定された期日までに測定条件、凍結試料を送ることで自動測定が実施され、試料とデータが返却されます(図1)。なお、自動測定では、各ビームラインで設定可能な波長、ビームサイズを試料ごとに選択できます。また、測定の種類、ループのサイズによって測定時間は異なります。UNIPUCK、ドライシッパーなど

図1 自動測定フロー。(Flow of automatic data collection.)

機材の貸し出しを希望される場合は、ご相談ください。

2.1 SPACEによる試料の自動交換

各ビームラインには試料を自動で交換するサンプルチェンジャーSPACE, SPACE-II²⁾が設置されています。自動測定をBL45XU(ビームサイズ: $20 \times 20 \mu\text{m}^2$, ヘリカルデータ収集)で実施した場合、UNIPUCK(16試料収容)1トレイは2時間程度で完了します。SPACEにはUNIPUCKを8個搭載可能なので、最大で128試料を12~16時間でデータ収集が可能です。

2.2 結晶位置を決定するX線スキャンと放射線損傷を考慮したデータ収集

ゴニオメータ上にマウントされた結晶は、ループセンタリングした後、X線によるスキャンを行い結晶の位置を決定します(図2)。X線スキャンを利用しているため、凍結した結晶に霜が付着している場合にも、自動データ収集は可能ですが、ice ring付近の強度データ積分に悪影響がある場合があります。これを避けるため、BL45XUの自動測定では、センタリング時に液体窒素滴下装置³⁾による霜取りも利用可能です(図3)。

データ収集は、結晶の形状、数により、以下の4種類の測定が選択できます(図4)。測定条件は、試料送付時

図2 X線スキャンによる結晶位置決定のイメージ。(Image of crystal location determination by X-ray scan.) 単結晶(上), 複数結晶(下)。

図3 液体窒素滴下装置による霜取りの効果。(Effect of removing frost by liquid-nitrogen drizzling device.) 使用前(左), 使用後(右)。

に専用のエクセルシートに記載します。以下「」内の記載は、エクセルシートで選択する測定方法の表記です。(1) ループ内にマウントした複数の結晶から small wedge (10° 程度) のデータを測定する複数部分データ集積法 (Small Wedge Synchrotron Crystallography) 「Multi」。(2) ゴニオの回転軸方向に結晶への照射位置を移動しながら測定するヘリカルデータ収集「Helical」。(3) 1カ所の照射位置で測定する単点露光データ収集「Single」。(4) センタリング後のX線スキャンによる結晶位置の結果を基に(1),(2),(3)を自動で組み合わせてデータ測定を行うMixedデータ収集「Mixed」。なお、Mixedデータ収集は現在試験運用中(2021年6月現在)です。利用希望の場合、事前にご連絡ください。

2.3 データ処理

自動測定で得られたデータは、KAMOシステム⁴⁾により自動で処理が行われます。各データ測定ごとに行う自動処理に加え、複数部分データ集積法で得られた small wedge データの処理結果はクラスタリング処理され、マージ計算まで行います。さらに、ヘリカルデータ収集で得られたデータは、30°ごとに分割した処理(ぶった切り処理)が行われ、クラスタリング処理した後にマージ計算まで行います。これらの処理結果のみをまとめた速報レポートはオンラインでダウンロードしていただくとともに、測定後の試料と回折イメージデータを含む全データをコピーしたHDD/SSDは後日返送しています。

Mixed: スキャン結果から自動で組み合わせて測定

図4 自動測定で選択可能な4種類の測定方法。(Four types of measurement modes that can be selected for automatic data collection.)

3. 遠隔測定

遠隔測定は、ユーザーが遠隔地より、放射光施設のビームライン機器を直接操作し、測定を行うことができるシステムです。自動測定と同様に、放射光施設に來れない状況下であったとしても、測定が可能になるメリットがある反面、インターネットを介することから安全性と操作の遅延が発生する点がデメリットとなります。

これまでSPRING-8のMXビームラインでは、安全性の面を重視し、専用ソフトウェアを用いた遠隔測定システムの運用を行ってきましたが、専用ソフトウェアの更新が進まず、来所測定との隔たりが大きくなっていました。そこで、かねてより国内外の放射光施設でも多く導入されているNoMachineを用いたりリモートデスクトップを導入し、ビームラインでの測定環境にできるだけ近い形で整備された計算機にログインして実験する新しい遠隔測定システムを立ち上げ、BL41XUにおいて本格運用を2020年度の後半より行っています。ほかのビームラインは、運用開始に向け、鋭意準備中(2021年6月現在)です。

3.1 遠隔測定システムの特徴

遠隔測定は、測定条件が決まっていなような新規の試料など、できるだけ自分の手で測定条件を決定したいときに、必要な測定手段となります。来所した測定と同様に、測定ソフトウェア Beamline Scheduling Software (BSS)⁵⁾を、オンラインで利用することができます。具体的には、測定前の試料をカメラで観察し、X線照射位置を決定すること、本測定前の予備測定を行うこと、回折像観察ソフト(AdxvやAlbulaなど)を用い、測定後の回折像をその場で観察、試料の状態を判断することができます。実験ハッチ内の様子もリアルタイムに動画として観察可能であり、実験状況の把握もできます。測定後のデータ処理については、自動測定で述べた自動解析ソフトKAMOが利用可能で、解析結果も、その場で結果のレポートを確認することができます。測定したデータは、自動測定と同様に全データを記憶媒体に保存し、返送しています(図5)。なお、測定用の計算機は定期的に

図5 遠隔測定フロー。(Flow of remote-measurement.)

更新され、最新の測定環境を提供できるシステムとなっています。

3.2 システムの安全性について

この遠隔測定システムは、3つの安全、つまり①放射線安全、②一般労働安全、③ネットワークの安全を担保しています。一般労働安全とは、外部からの機器操作によってビームラインでの人的被害が起らないようにするもので、光学および実験ハッチが無人かつ立ち入りができずビーム照射が可能な状態（正常閉）になったときのみ、接続が可能になるのが特徴です。ネットワークの安全性についても、ユーザーのデータを守るために、ビームタイム中のみ定められたビームラインに接続し、ユーザーごとに指定されたデータ領域にアクセス可能なシステムとなっています。また、計算機の基本設定を変更できないように、コマンド利用が可能なターミナルソフト、ファイルを操作できる編集ソフト、ファイルマネージャーは利用できません。

3.3 利用手続きについて

利用の前に、来所実験の際と同様の手続きを行ったうえで、遠隔測定を安全に行っていただくための簡単な講習を受講していただきます。利用にあたっては、遠隔測定に必要な2つのソフト (NoMachineとVPNクライアント) をインストールし、担当者から送られた認証キー

とユーザー名、パスワードを入力していただきます。そうすることで、ビームラインの計算機に接続し、機器を操作することが可能となります (図5)。

文献

- 1) K. Hirata, K. Yamashita, G. Ueno, Y. Kawano, K. Hasegawa, T. Kumasaka and M. Yamamoto: *Acta Cryst.* **D75**, 138 (2019). doi: 10.1107/S2059798318017795
- 2) H. Murakami, K. Hasegawa, G. Ueno, N. Yagi, M. Yamamoto and T. Kumasaka: *Acta Cryst.* **D76**, 155 (2020). doi: 10.1107/S2059798320000030
- 3) Y. Nakamura, S. Baba, N. Mizuno, T. Irie, G. Ueno, K. Hirata, S. Ito, K. Hasegawa, M. Yamamoto and T. Kumasaka: *Acta Cryst.* **F76**, 616 (2020). doi: 10.1107/S2053230X2001420X
- 4) K. Yamashita, K. Hirata and M. Yamamoto: *Acta Cryst.* **D74**, 441 (2018). doi: 10.1107/S2059798318004576
- 5) G. Ueno, H. Kanda, T. Kumasaka and M. Yamamoto: *J Synchrotron Radiat.* **12**, 380 (2005). doi: 10.1107/S0909049505004735

プロフィール

馬場清喜 Seiki BABA

(公財) 高輝度光科学研究センター 放射光利用研究基盤センター タンパク質結晶解析推進室
Protein Crystal Analysis Division, Center for Synchrotron Radiation Research, Japan Synchrotron Radiation Research Institute
〒679-5198 兵庫県佐用郡佐用町光都 1-1-1
1-1-1 Kouto, Sayo, Hyogo 679-5148, Japan
専門分野：放射光X線結晶構造解析
現在の研究テーマ：非凍結環境X線結晶構造解析手法の開発

水野伸宏 Nobuhiro MIZUNO

(公財) 高輝度光科学研究センター 放射光利用研究基盤センター タンパク質結晶解析推進室
Protein Crystal Analysis Division, Center for Synchrotron Radiation Research, Japan Synchrotron Radiation Research Institute
〒679-5198 兵庫県佐用郡佐用町光都 1-1-1
1-1-1 Kouto, Sayo, Hyogo 679-5148, Japan
専門分野：放射光X線結晶構造解析
現在の研究テーマ：放射光遠隔測定／自動調整システムの開発