

PXビームラインの現状

松垣直宏

高エネルギー加速器研究機構

タンパク質結晶構造解析ユーザーグループミーティング

2020年3月11日 (水) 中止

体制

スタッフ

松垣直宏 (BL-1A, BL-5A)
山田悠介 (BL-17A , AR-NE3A)
引田理英 (AR-NW12A)
平木雅彦 (Robotics)

ビームラインサポート

出村一貴
久保田孝幸
田辺嶺
川崎健一
黒屋浩太郎
田中牧子

研究支援

渡部正景 (ロボット開発)
生田一之 (ソフトウェア開発)

代行測定

千田美紀
長瀬里沙
田中牧子
引田理英
山田悠介

博士研究員

篠田晃 (SIROCC)
小祝孝太郎 (COMPASS)

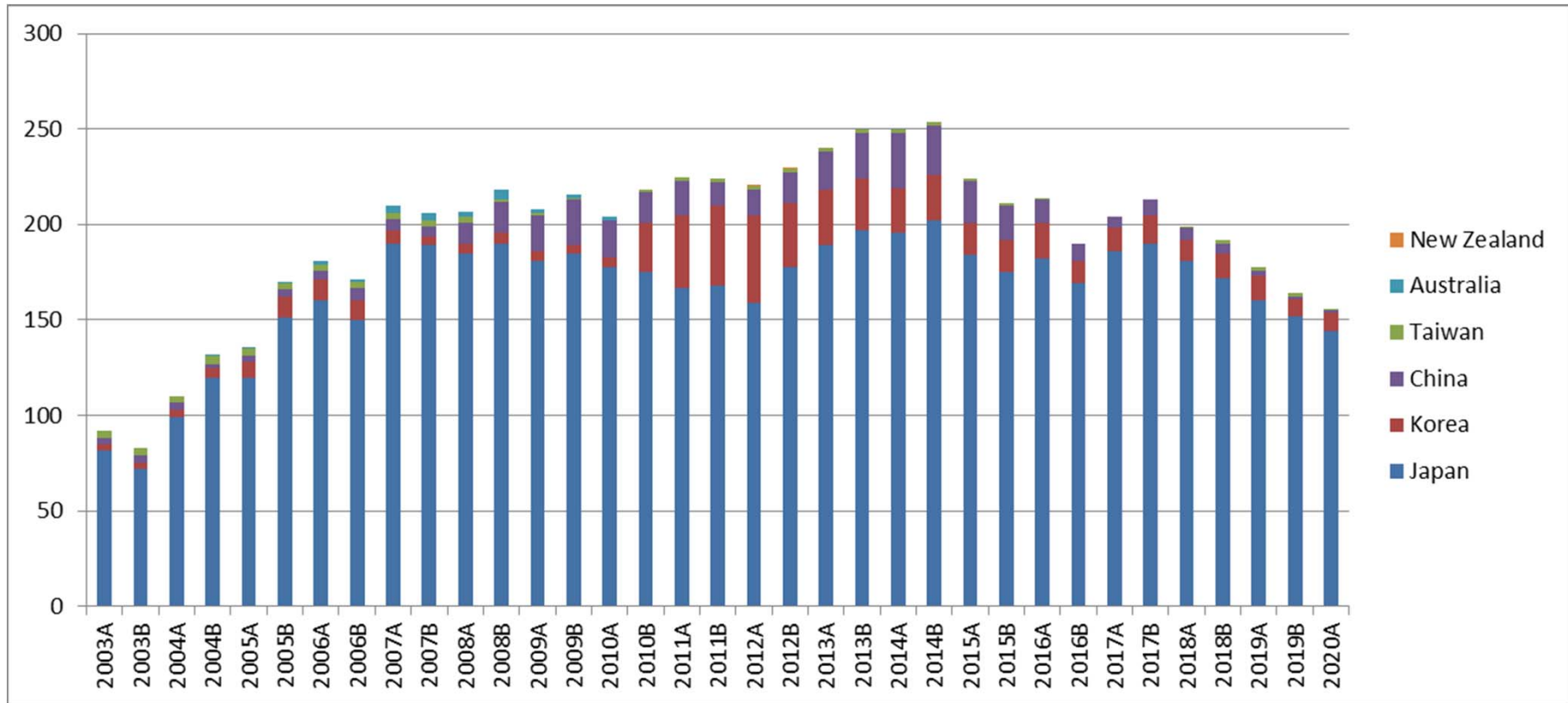
学生

菅原隆広 (in-situ測定開発)

秘書

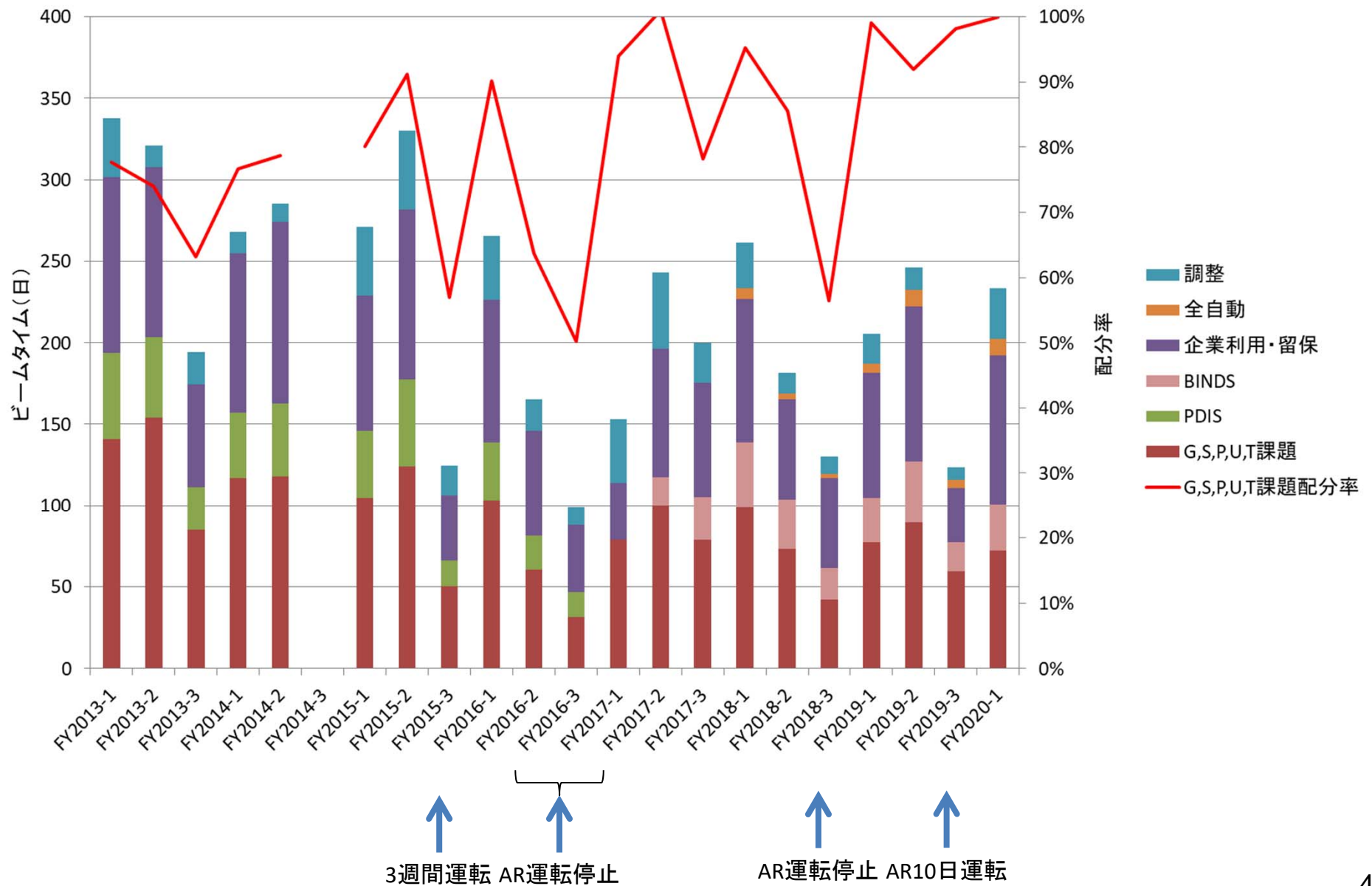
銭谷智子
田中富美子

有効課題数の推移



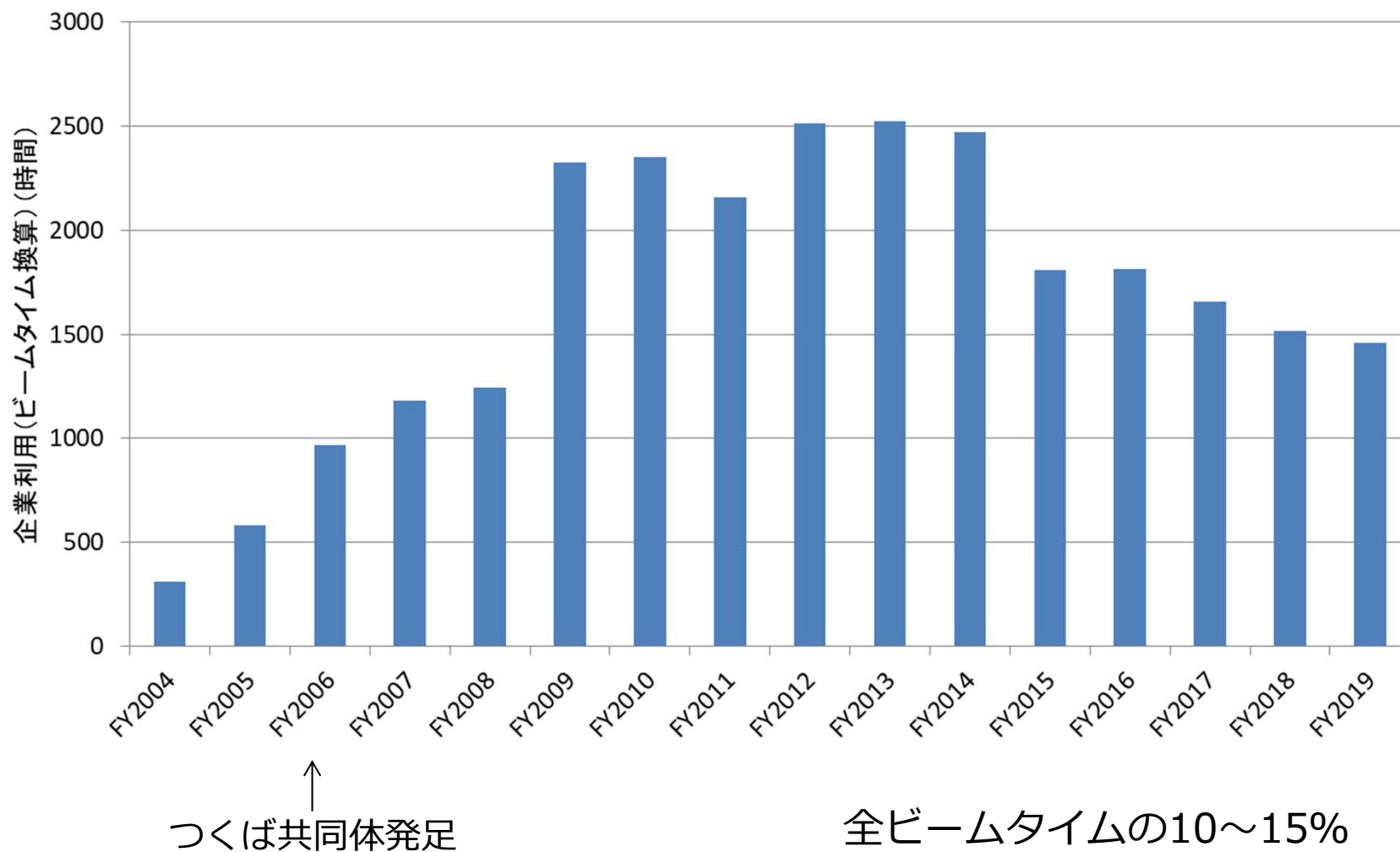
- 有効課題数は近年減少傾向
- 海外ユーザーは主に韓国ユーザー

ビームタイム配分状況



産業利用ビームタイム

施設利用、民間共同研究による利用



産業利用促進運転

期間： 2019/6/24- 6/30 (7日間)

ビームライン： PFの全ビームライン

- 企業が運転に要する全ての運転経費を負担
- 運営交付金によるK E Kの運転時間外で付加的に企業による企業のための運転時間を確保

43シフトを留保ビームタイムとして一般課題に開放

配分実績

	配分 (シフト)
企業利用	13
一般課題	20
全自動測定	3
未配分	27

補償ビームタイム含む

Swiss Light Sourceの利用

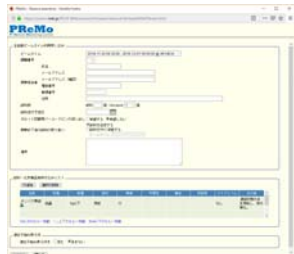
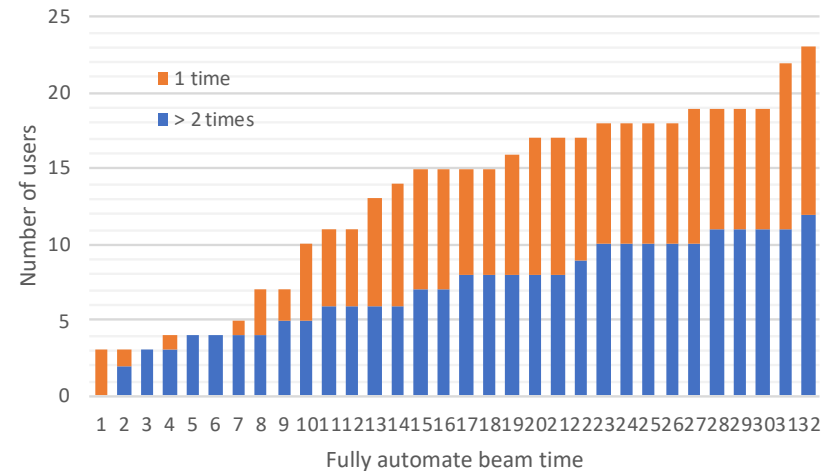
期間： 2019 年8 – 9月
ビームライン： X06SA & X06DA (計19シフト)
測定： 代行測定 (引田理英、KEK-SBRC)

- KEK – PSI 間のMOUに基づくビームタイム利用
- SLSへのサンプル輸送はKEK-SBRCが取りまとめ

	FY2019		FY2018 (参考)	
	申し込み	結晶個数	申し込み	結晶個数
G, S2, T 型課題	18 研究室	490	15 研究室	330
BINDS	3 課題	95	13 課題	195

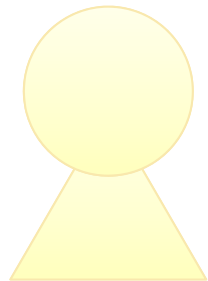
全自動ビームタイム : Rapid access

- Dedicated beamtime for fully automated data collection is regularly allocated (1~2 days per week)
- Users with a valid proposal are allowed to collect data on this beamtime by just sending samples.



1. Apply from PReMo
(4 days before)

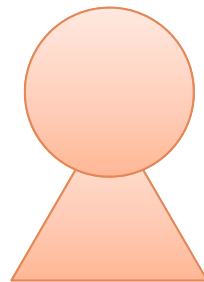
2. Send samples and
HDD



User



5. Send back
samples and HDD



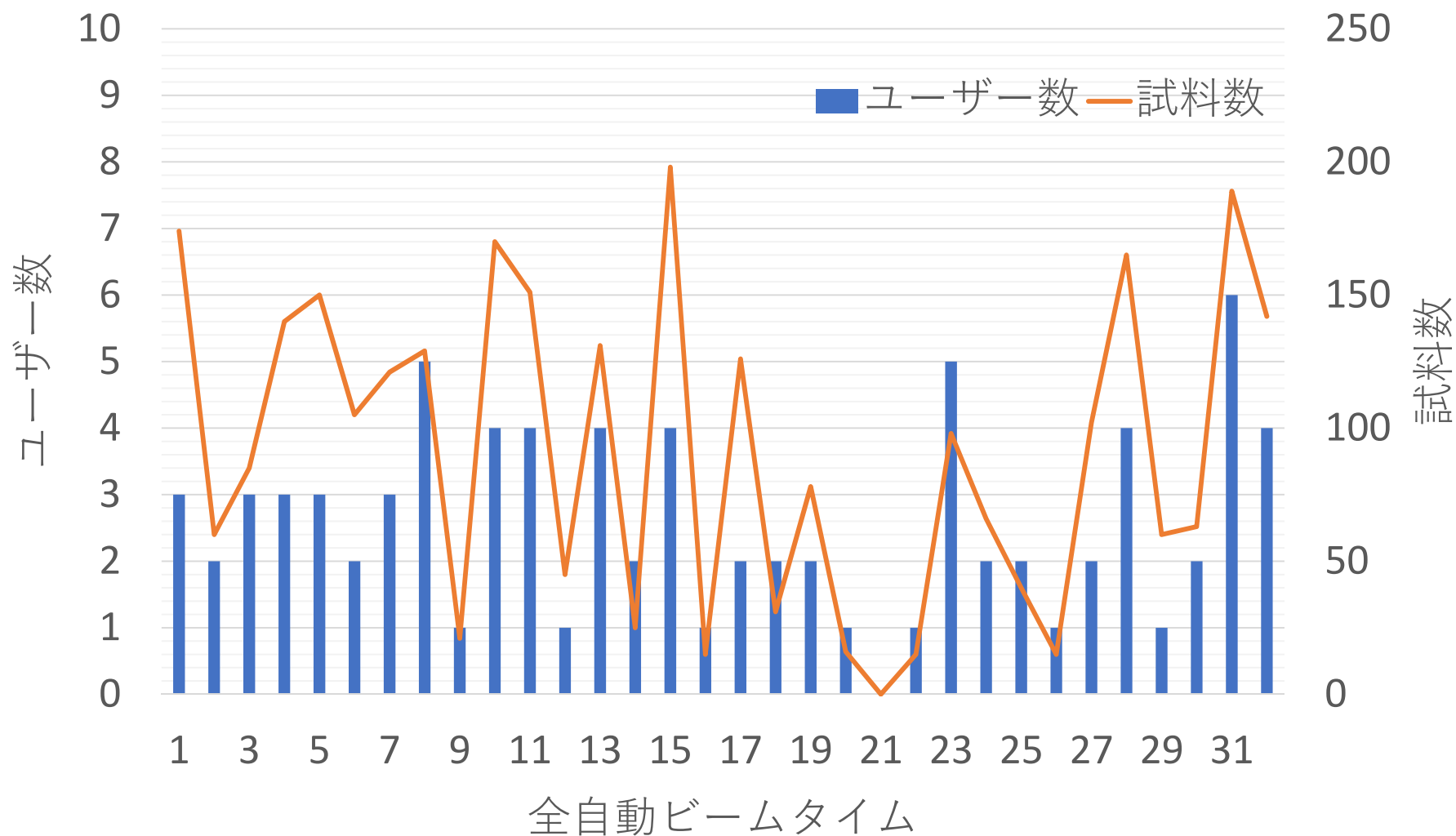
Beamline
staff



3. Set cassettes in the Dewar
4. Automated data collection

全自動ビームタイム利用状況

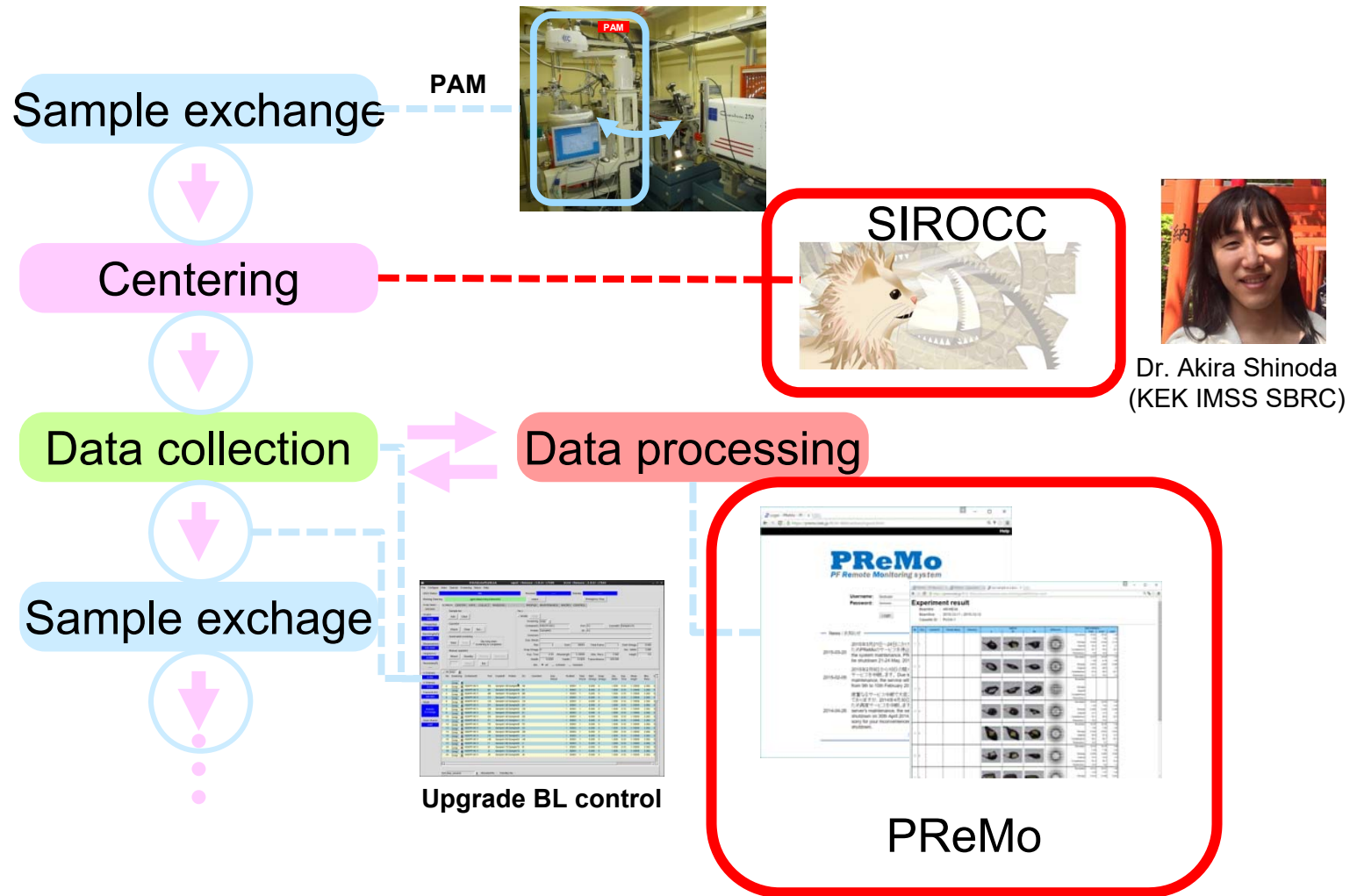
2018年度より一般課題を対象にAR-NE3A, BL-17A, (BL-5A)で実施



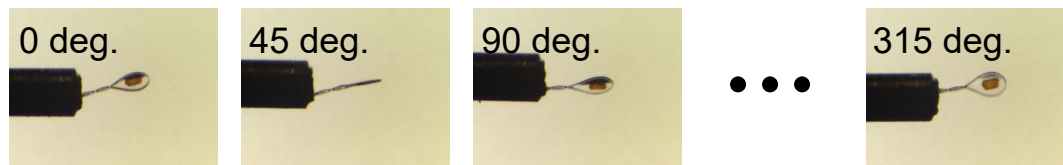
2019年3月以降の主な整備・高度化

- 全自動測定
- Native SAD位相決定
- サンプルチェンジャー高度化

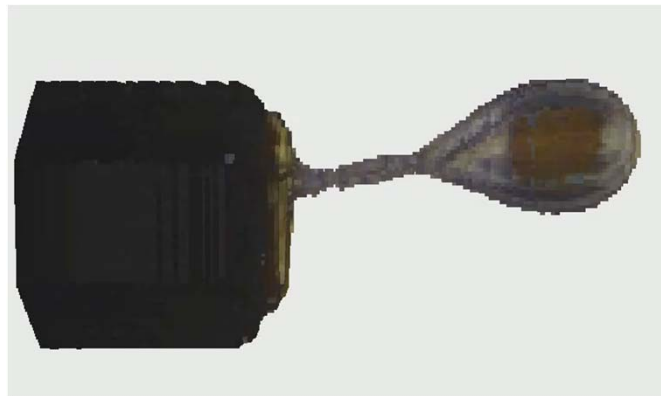
全自動測定



Sample centering by SIROCC

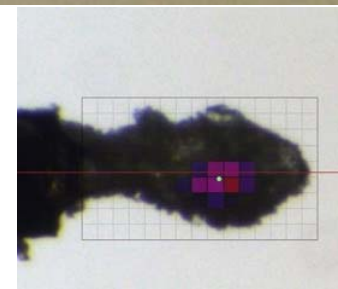
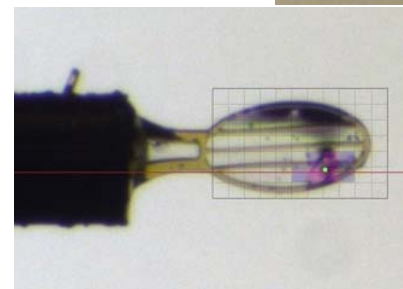
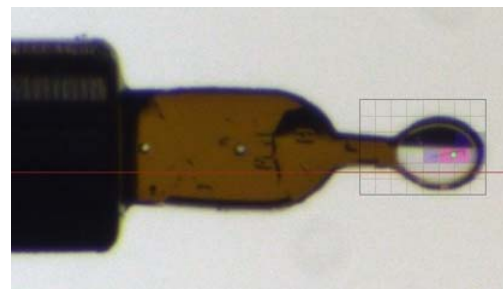
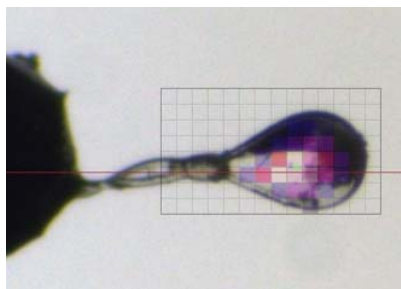
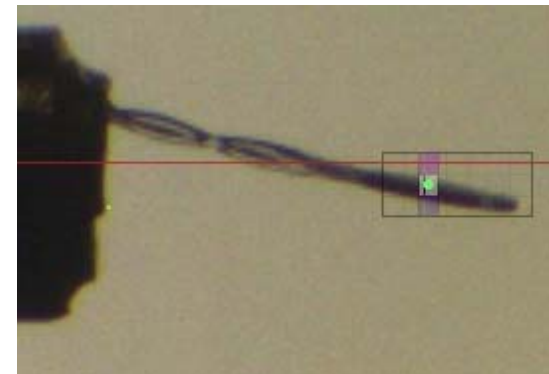
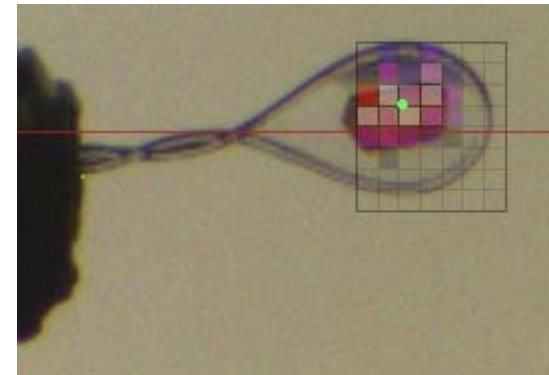


3D reconstruction ($< 1\text{sec. with a GPU box}$)

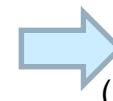


Determine scan area & X-ray scan

Heatmap (# of spots)



Time for crystal centering is about 150 sec. @AR-NE3A
(Beam diameter: 50 μm)



~200 samples/day
(1 deg., 1 sec., 180 frames, ~10 MGy)

Experimental database: PReMo

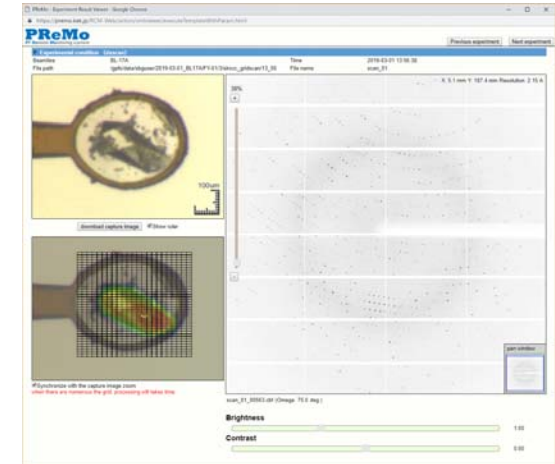
Date	Rate
2019-02-28	1.000	0.000	1.0	0.0	2.0
2019-03-03	1.000	0.000	1.0	0.0	2.0
2019-03-03	1.000	0.000	1.0	0.0	2.0
2019-03-05	1.000	0.000	1.0	0.0	2.0

Order: 3
ContainerID: P181
Part: 3
Barcode: DmHabo
Protein: DmHabo
CrystalID: DmHabo_003

Discan Done
Snapshot Done
Runs Done
Process Done

Discan
Snapshot
Capture
Runs

Data statistics	Total	Inner	Outer
Resolution	46.50	46.50	1.65
-	1.62	8.87	1.62
Rmerge	0.043	0.019	0.903
I/signal	27.8	79.7	2.3
Completeness	98.0	99.1	81.2
Redundancy	12.7	10.7	8.6



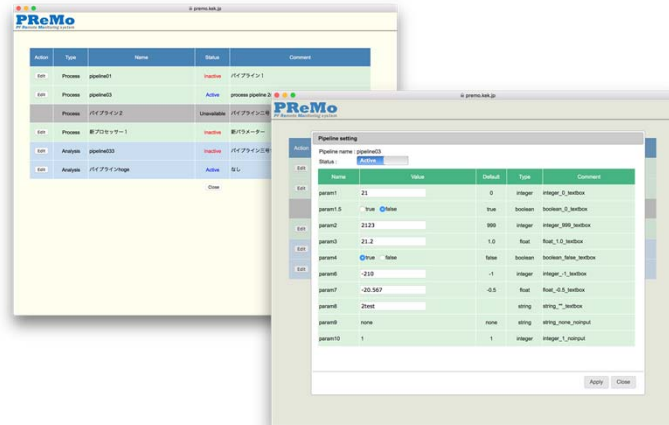
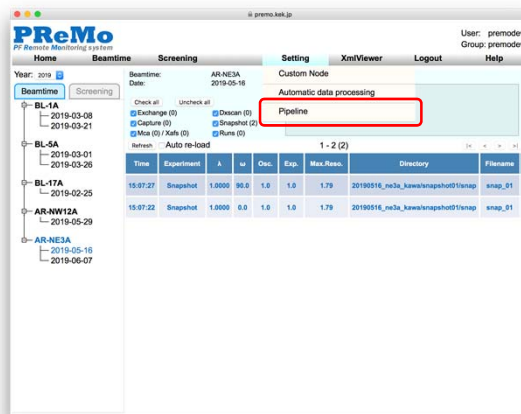
Data statistics

	Total	Inner	Outer
Resolution	46.50	46.50	1.65
-	1.62	8.87	1.62
Rmerge	0.043	0.019	0.983
I/signal	27.8	79.7	2.3
Completeness	98.0	99.1	81.2
Redundancy	12.7	10.7	8.6

- 実験の進捗をWEB上でモニタリング
- 実験情報の記録
- データの自動処理パイプラインの実装

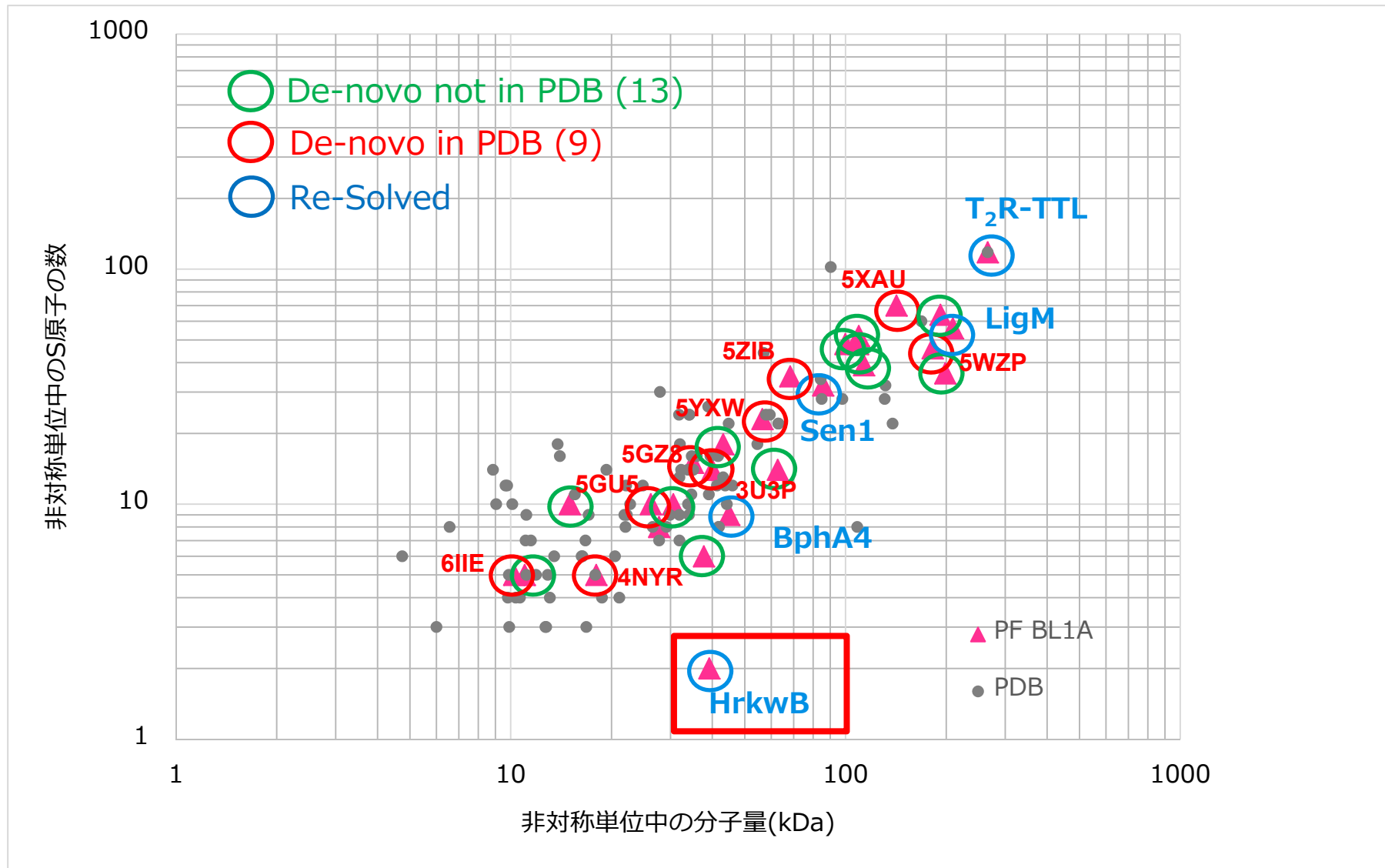
全自動測定: 今後の予定

- ループ上の複数結晶への対応
- 最適測定条件（検出器距離等）の自動決定
- データ処理・構造決定パイプラインの追加



Process	Fast XDS, XIA2(XDS), XIA2(DIALS), AutoPROC
Analysis	COMPASS, DIMPLE SHELXCDE(Fast EP)

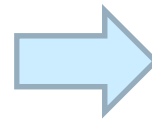
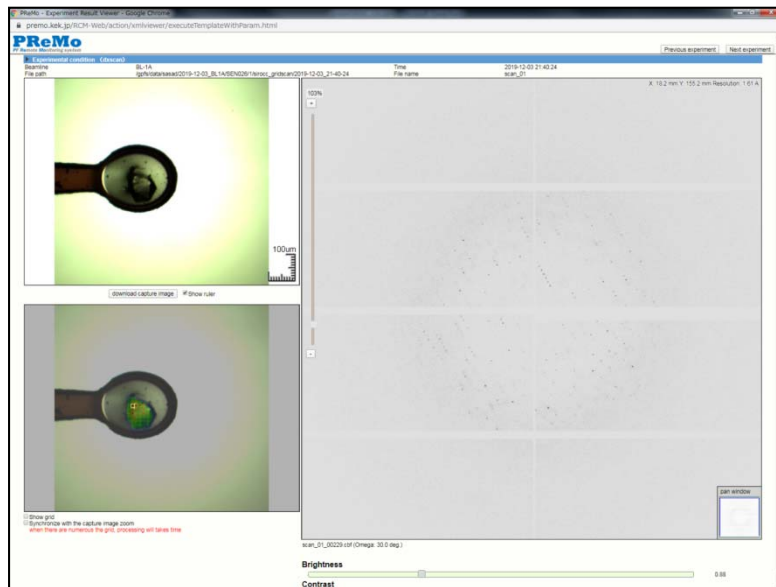
Structures solved by Native SAD at BL-1A



Native SAD phasing for HrkwB protein

Pre-screening

- 回折スキャンによる結晶位置の確認、回折能のチェック
- PReMoに記録



Puck
輸送

結晶加工

直径80 ~ 100 μm の球へ加工

	Before	After		Before	After
1			6		
2			7		
3			8		
4			9		
5			10		



Puck 輸送

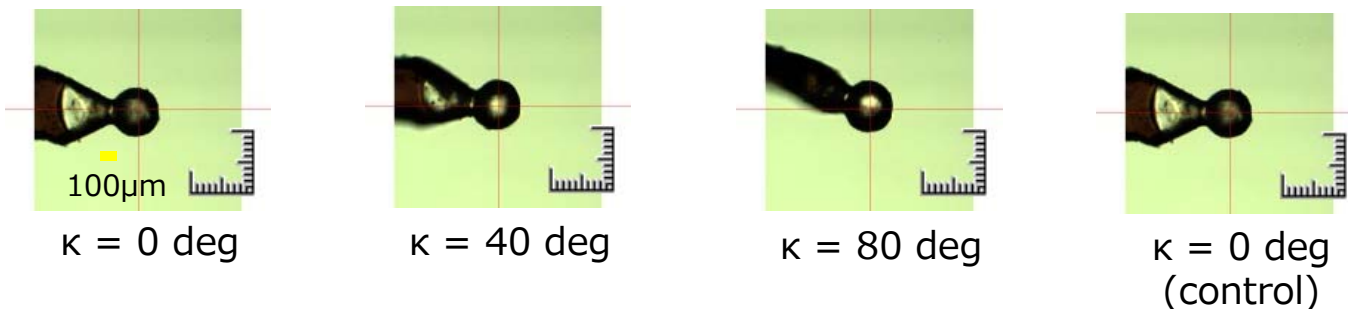
Native SAD data collection @ BL-1A

Native SAD phasing for HrkwB protein

Crystal shaping was applied for native SAD phasing of low-sulfur-content protein (1Met / 178 residues)

Wavelength:	2.7 Å
Osc width:	0.1 deg
Exposure time:	0.01 sec
Osc range:	360 deg
Photon flux:	3×10^{10} photons/s (30% transmit.)
Detector config.	Normal (max. resolution ~ 3 Å)
Dose:	1.6MGy / data set

4 data sets from a crystal with 3 different kappa angles



- 40 data sets collected from 10 crystals
- 8 data sets merged from 2 (isomorphous) crystals (redundancy: 47)

autoSharp: 328 residues built in 2 chains - with 325 sequenced.

Following autoBuster: R/Rfree: 26/30%

試料交換システムの高度化

- デュワー蓋の導入
 - ✓ Sliding lid
 - ✓ デュワー内の霜の低減
 - ✓ アーム乾燥頻度減
 - ✓ 液体窒素供給頻度減



PAM-HC@BL-1A



PAM@BL-5A, 17A,
AR-NW12A

PAM-HC: 試料交換の高速化



PAM-HC (BL-1A)

- ロボット動作の見直し（動作の簡略化）
- ステップごとに送っていたコントローラへの命令を、ひとまとめにして一度に送る

試料交換時間： 約30秒への短縮を実現
(これまででは約70秒)