

平成 30 年 6 月 29 日現在

機関番号：82118

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2011～2015

課題番号：23227003

研究課題名(和文)超高速微細ピクセル検出器が拓く構造生物学の新展開

研究課題名(英文) Construction of novel detector system for structural biology using ultrafast fine pixel detector

研究代表者

若槻 壮市 (Wakatsuki, Soichi)

大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・研究員

研究者番号：00332114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 145,800,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質のX線構造解析用に、素粒子実験向けに開発された最新のピクセル型検出器DEPFET (DEpleted P-channel Field Effect Transistor) を応用した高精細高速読み出し検出器を制作した。放射光X線を用いた評価実験を行い、DEPFETが既存のX線検出器を上回る位置測定精度でタンパク質結晶や溶液からの回折像を撮影でき、しかも高速なヒット情報の取り出しが可能であることを示した。センサーモジュールを並べてメガピクセル級の大面積検出器を構成することで、高難度タンパク質の微小結晶構造解析や時分割溶液散乱へ適用され、新しい測定・解析技法が切り拓かれることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We have developed a high-resolution and high-speed readout detector for protein structural analysis, based on the latest pixel detector DEPFET (DEpleted P-channel Field Effect Transistor) developed for particle physics. Evaluation experiments using synchrotron radiation X-rays showed that diffraction images from protein crystals or solutions can be taken with better positional accuracy with DEPFET than existing X-ray detectors, and the hit information can be read out in high frame rate. By arranging sensor modules side by side to constitute a megapixel class large area detector, it is expected to be applied to microcrystal structure analysis of highly difficult proteins or time-resolved solution scattering, and to lead opening up new measurement and analysis techniques.

研究分野：構造生物学

キーワード：ピクセル検出器 タンパク質結晶構造解析 タンパク質溶液散乱

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質結晶構造解析のターゲットは、生命活動に重要な働きをもつ膜タンパク質や、リボソームに代表される超分子複合体へ移ってきている。これらのタンパク質は結晶からの回折強度が微弱であり、回折点の間隔が非常に密となるため、微弱な反射を測定可能な空間分解能の高い二次元検出器が必須である。一方、タンパク質溶液の小角散乱による時分割構造解析においては、試料の高速混合技術によりサブミリ秒オーダーの時間変化を追いかけることが可能となってきた。この時間領域には、酵素反応に伴う構造変化やタンパク質のフォールディングなど興味深い対象があり、広いダイナミックレンジかつ高い位置分解能を持つ画像をマイクロ秒オーダーで読み出す検出器が求められる。

現在使われている CCD 型検出器では、X 線を蛍光体層で可視光に変換し光ファイバーを束ねて絞り込んだ光学系を経由して CCD チップに導くため、感度や位置分解能の上で不利である。また、PILATUS に代表されるピクセルアレイ型検出器は X 線を直接信号に変換するフォトンカウンティング型検出器であるが、ピクセルサイズが大きくフレームレートも数十 Hz 程度と低い。

### 2. 研究の目的

既存の検出器を大幅に上回る位置測定精度を持ち、しかも高速なヒット情報の取り出しによって動画の撮像も可能な検出器として、我々は素粒子実験向けに開発された最新のピクセル型検出器 DEPFET (DEpleted P-channel Field Effect Transistor) に着目した。本研究では、このピクセル型検出器をもとにタンパク質の構造解析用に最適化した 800 万画素の超高精細高速読み出し検出器を制作し、もって高難度タンパク質の微小結晶構造解析および時分割溶液散乱の新しい技法を切り拓く

### 3. 研究の方法

本研究は、KEK 物質構造科学研究所の構造生物学グループと KEK 素粒子原子核研究所の Belle II グループが協力して推進する。平成 23 年度は小面積の DEPFET 検出器を用いて X 線の複数の回折点観測の原理検証を行う。平成 24、25 年度はこれを高精度可動ステージに載せて移動させ、回折像を広い範囲で取得する。平成 26、27 年度は大面積の DEPFET 検出器を製作し、DAQ を最高性能で稼働させて、タンパク質結晶からの回折データセット収集および小角散乱像の動画取得を行う。研究は 3 つのチームが協力して推進する。DEPFET センサーチームは小面積センサーの操作およびデータ処理を担当し、実際にセンサーを生産しているドイツのグループ (Max Planck Institute: MPI) と情報交換を行いながら最終的な検出器の仕様を検出器の視点

から提案する。DAQ チームはセンサーチームと連携を取りながら、最適なデータ取得システムをデザインする。ステージチームは放射光ビームラインでのビームテストに責任を持ち、測定およびデータの評価を行ってセンサーチーム・DAQ チームへフィードバックする。

### 4. 研究成果

#### (1) ILC 用 DEPFET 検出器を用いた DEPFET センサーの評価

ILC (国際リニアコライダー) 用に開発された小面積の DEPFET 検出器 (256x64 ピクセル、ピクセルサイズ 20 ミクロン) を用いて DEPFET センサーの評価を行った。

#### ① タンパク質結晶からの回折像撮影

光子フラックスを制御した放射光ダイレクトビームを入射し、DEPFET センサーレスポンスのエネルギー依存や入射角依存性、ダイナミックレンジ、放射線耐性等について測定および評価を行った。その後、DEPFET 検出器を自動ステージで平面上を走査させ、放射光ビームの露光と同期させながら、タンパク質 (ニワトリ卵白リゾチーム) 結晶からの回折像を撮影した。測定は KEK-PF のビームライン BL-5A で行われた (図 1)。各位置で得られた小面積の回折像を、位置情報をもとに結合 (画像処理) し、作製予定である大面積の検

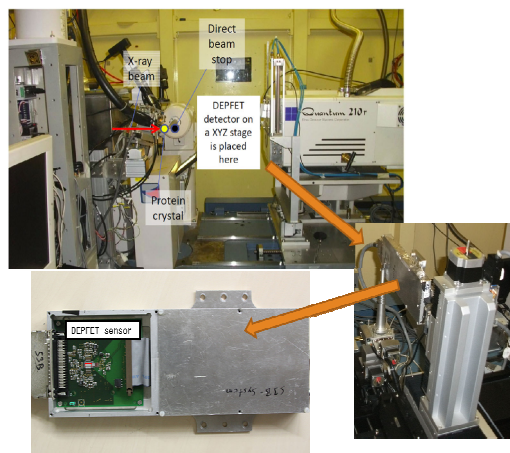


図 1 ILC 用 DEPFET 検出器と放射光ビームラインでの実験セットアップ

出器で広い立体角をカバーした測定を模擬した。合計 390 枚 (=39 行 x 10 列) を結合した回折像は、結晶からの特徴的な回折パターンを明瞭に示していた (図 2-1)。また、特定の回折点に着目すると精細なプロファイルを得られていることが判明した (図 2-2)。このような精密測定は実効的なピクセルサイズが大きい CCD 検出器や Pilatus 検出器では不可能であり、ピクセルサイズの小さい DEPFET センサーの特徴を示したものと考えられる。

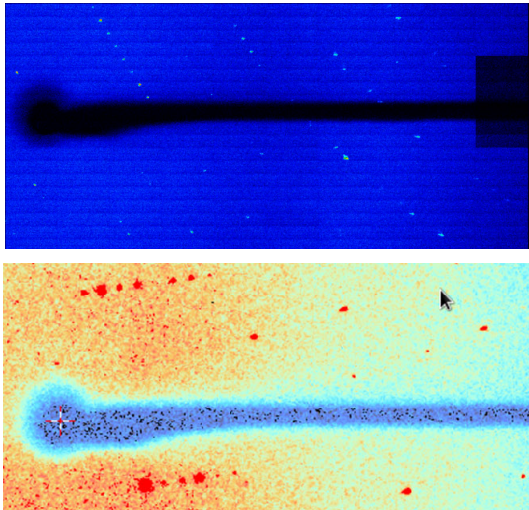


図 2-1 リゾチーム結晶からの回折像。上) 小面積 DEPFET 検出器の画像を結合したものの。下) CCD 検出器で測定したものの。

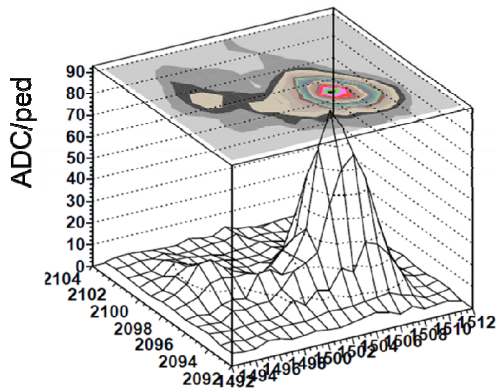


図 2-2 特定の回折点の強度プロファイル

### ②小角散乱像の測定

小面積 DEPFET 検出器を X-Y 二軸上で走査してニワトリコラーゲンからの小角散乱像を測定した。測定は KEK-PF のビームライン BL-10C で行われた。小面積の像を結合した像（大面積検出器を模擬したもの）からは分子の構造を反映した明瞭な小角散乱パターンが観察された（図 3）。

### ③センサーの位置分解能（ポイントスプレッド関数）測定

検出器の位置分解能を決める特性の一つ、ポイントスプレッド関数を実測した。センサー面にエネルギー 12.3keV、10 ミクロン径のビームを照射し、センサーを 2 ミクロンずつ並進させ、各ピクセルでどれだけのヒットがあったかをプロットした（図 4）。ビームの広がりを仮定すると、ポイントスプレッド関数は 1 ピクセル（20 ミクロン）以下であることが示された。小径ビームをセンサーに斜め入射させたときのポイントスプレッド関数に関

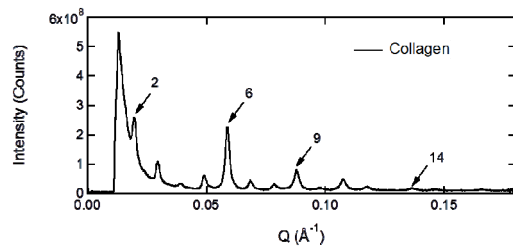
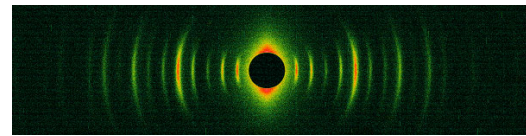


図 3 コラーゲン試料からの小角散乱像。上) 小面積 DEPFET 検出器の画像を結合したものの。下) 散乱強度プロファイル

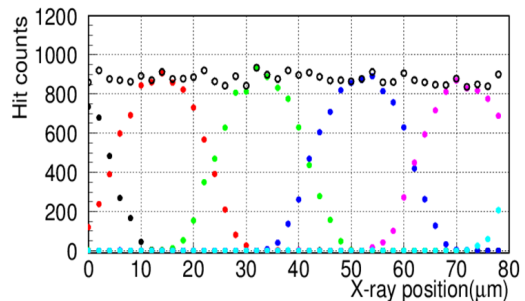


図 4 光子に対するピクセル反応の位置依存性

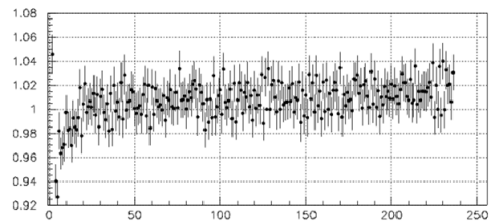
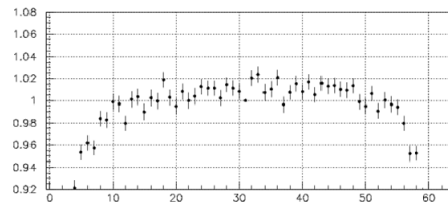


図 5 センサーの検出効率の一様性。上) 短軸方向。下) 長軸方向

しても測定および評価を行った。

### ④センサーの一様性測定

DEPFET センサーの感度ムラや欠陥ピクセルを調査する目的で、センサーに空間的に一様な X 線（フラットフィールド）ビームを照射し、得られたイメージを解析した。結果とし



て欠陥ピクセルは存在せず、センサー周辺部の数ピクセル幅で検出効率が低くノイズが大きいことが分かった (図 5)。

### (2) 構造生物学実験用 DEPFET 検出器の仕様決定

ILC用 DEPFET 検出器を用いた評価実験から得られた基礎データをもとに構造生物学実験用 DEPFET 検出器の仕様を決定した。センサーは素粒子原子核実験用検出器 BELLE-II PXD とほぼ同仕様 (厚さ 75 ミクロン、ピクセルサイズ 50x55 ミクロン) のものを用い、低エネルギー X 線に特化したものとした。検出器は、16 個のセンサー (250x758 ピクセル) を並べた約 300 万画素の平面型検出器 (有効面積約 80mm 角) となるよう最終決定した。平面型検出器によって、DEPFET の高速読み出しや小さなピクセルサイズといった特徴を生かした結晶構造解析および溶液散乱の実験に十分応用できる。

### (3) 構造生物学実験用 DEPFET 検出器システムの構築

①ドイツグループの研究協力のもと、DEPFET センサーモジュール (大面積 DEPFET センサーと ASIC を搭載した基板)、電源ユニット、データハンドリングハイブリッド (DHH、データ読み出しの前段部) の製作を行った。センサーモジュールの製作においては、配線の断線や短絡、ハンダ付の不具合を克服し、研究遂行に十分な製作歩留りを得るための工程パラメータ (精密な温度管理や高度なハンダ付け技術) を得ることに成功した (図 6)。センサーモジュールと DHH のインターフェースは、本プロジェクトで必要な機能に限定したシンプルなアダプターボードを設計し、その製作を行った。

②検出器メカニクス (センサーのサポートや冷却システム、ケーブリング、筐体等) の詳細設計を行った (図 6)。センサーモジュールの配置は、不感領域を考慮した二通りのレイアウトが可能である。センサーのサポート構造体を試作し、ダミーのセンサーを製作・設置して問題ないことを確認した。複数のセンサーモジュールを支えるメインのサポートフレームについても、熱交換器や冷却配管を含め製作を行った。

③データ読み出しの後段 (受け側) システムを構築した。放射光実験を遂行する上で必要見積り、データストレージには SSD (1.6TB 以上) を採用することやストレージサーバおよびネットワークカードの構成等を決定し、それらの導入を行った。DHH から PCIe カードへのデータ伝送試験を行い、FPGA の開発環境の立ち上げおよび伝送に最適化したファームウェアの開発を行った (図 7)。

④センサーモジュールが大量生産されるま

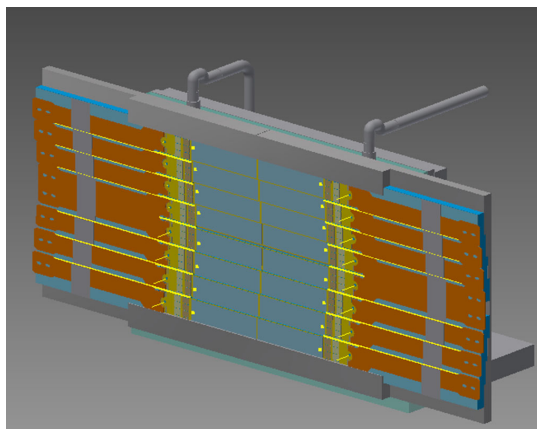
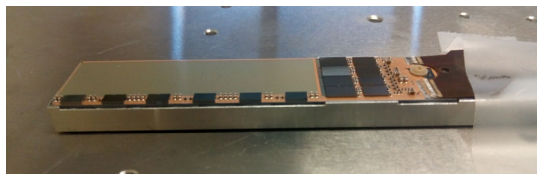
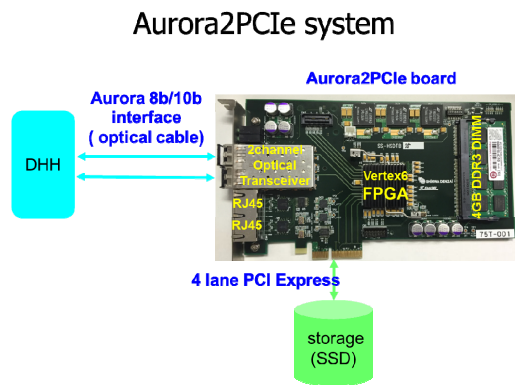


図 6 検出器メカニクス。上) サポート治具へマウントされた DEPFET センサーモジュール。下) DEPFET 検出器の全体構成図。16 枚のセンサーモジュールは、それぞれサポート治具にマウントされた状態で冷却ブロック上に平面状に並べられる。



### Aurora2PCIe FPGA blockdiagram

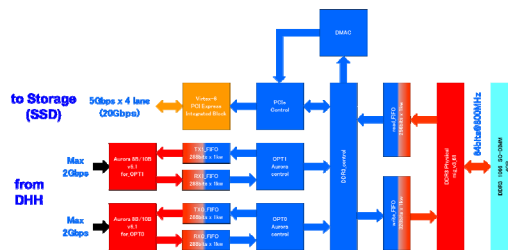


図 7 データ読み出しシステム。上) システム構成。下) 読み出し用 PCIe カードの FPGA ブロックダイアグラム

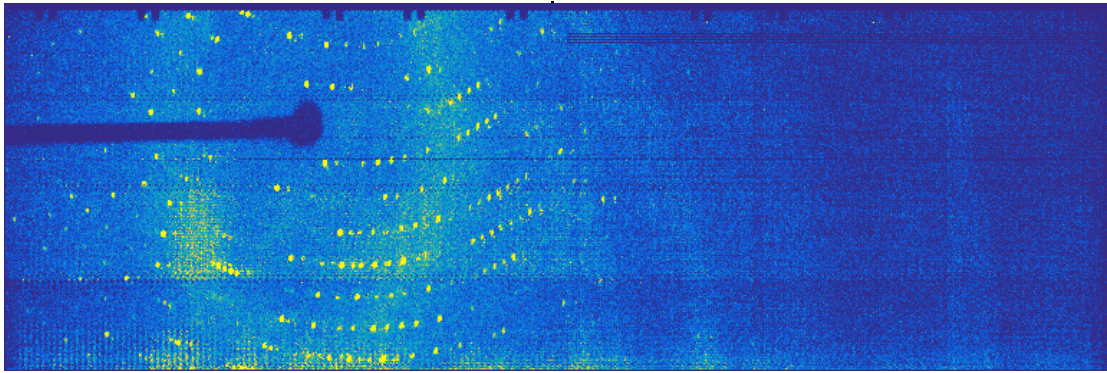


図8 一枚の検証用モジュール (250x758 ピクセル、ピクセルサイズ 50x55 ミクロン) で測定されたリゾチーム結晶の回折像

で、同等のセンサーレイアウトおよびデータ読み出し用エレクトロニクスを持つ検証用モジュールを使って、放射光ビームラインで評価実験を行った。位置・エネルギー分解能、検出効率や飽和性能など検出器の基礎特性を評価した。その後、リゾチーム結晶から実際に回折像測定を行い、データのイメージ化までのデータ処理を確立した(図8)。一方で検出器を制御するスローコントロールシステムや、データ読み出しシステムの問題点を洗い出し、改良を行った。

#### (4) 今後の課題

DEPFET 検出器を構成する要素はすべて製作したが、DEPFET センサーモジュールの製作が大幅に遅れたため、16枚のセンサーモジュールをアSEMBルした大面積検出器による回折・散乱データ測定は、本プロジェクト期間中に完了できなかった。生データからの変換の自動化や、検出器のダイナミックレンジを考慮した最適な測定条件の決定、検出器の動作を制御するスローコントロール(センサーモジュールのオン/オフとゴニオメータ・シャッターとの連動制御等)は今後の課題である。今後も研究を継続することで、高難度タンパク質結晶高解析や時分割溶液散乱に応用可能なX線検出器として、実現されることが望まれる。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 8 件)

① 今野 智之, 高速微細ピクセル検出器 DEPFET を用いた放射光実験装置の開発, 日本物理学会 第 72 回年次大会, 2017 年 3 月 17 日, 大阪大学

② 小林 愛音, Belle II 用ピクセル検出器 DEPFET の放射光科学への応用, 日本物理学会 第 72 回年次大会, 2017 年 3 月 17 日, 大阪大学

③ PULVERMACHER Christian, Slow control system for DEPFET pixel sensors at the KEK Photon Factory and the Belle II experiment, 日本物理学会 第 72 回年次大会, 2017 年 3 月 17 日, 大阪大学

④ Christian Pulvermacher, DEPFETs for Photon Factory: status update and plans, 20<sup>th</sup> International workshop on DEPFET detectors and applications, 2016 年 5 月 12 日, Kloster Seeon, Germany

⑤ L. Andricek, C. Koffmane, J. Ninkovic, C. Kiesling, H-G. Moser, F. Muller, M. Ritter, K. Hara, N. Matsugaki, H. Miyake, S. Tanaka, N. Shimizu, Y. Ushiroda, T. Higuchi, S. Wakatsuki, The DEPFET ultra-fast fine-pitch pixel detector for particle and photon detection, 12th International Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation (SRI 2015), 2015 年 7 月 6 日, New York, USA

⑥ Naohiro Matsugaki, DEPFETs for Photon Factory KEK, 16th International workshop on DEPFET detectors and applications, 2014 年 5 月 26 日, Kloster Seeon, Germany

⑦ HARA Koji, WAKATSUKI Soichi, SHIMIZU Nobutaka, MATSUGAKI Naohiro, USHIRODA Yutaka, TANAKA Shuji, MIYAKE Hideki, HIGUCHI Takeo

Study for development of novel detector system for structural biology using ultrafast fine pixel detector, 5th Asian Forum for Accelerators and Detectors (AFAD), 2014 年 4 月 14 日, Australian Synchrotron, Melbourne, Australia

⑧ WAKATSUKI Soichi, DEPFET as X-ray detector for synchrotron protein X-ray crystallography & SAXS experiments, 13th International Workshop on DEPFET Detectors and Applications, 2013 年 6 月

12日, Ringberg

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://twiki.hll.mpg.de/bin/view/DEPFET/WebHome>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

若槻 壮市 (WAKATSUKI Soichi)

高エネ機構・物質構造科学研究所・研究員

研究者番号: 00332114

### (2) 研究分担者

後田 裕 (USHIRODA Yutaka)

高エネ機構・素粒子原子核研究所・教授

研究者番号: 10342601

三宅 秀樹 (Miyake Hideki)

高エネ機構・素粒子原子核研究所・研究機  
関講師

研究者番号: 20403115

清水 伸隆 (SHIMIZU Nobutaka)

高エネ機構・物質構造科学研究所・准教授

研究者番号: 20450934

樋口 岳雄 (HIGUCHI Takeo)

東京大学・学内共同利用施設等・准教授

研究者番号: 40353370

松垣 直宏 (MATSUGAKI Naohiro)

高エネ機構・物質構造科学研究所・准教授

研究者番号: 50342598

田中 秀治 (TANAKA Shuji)

高エネ機構・素粒子原子核研究所・准教授

研究者番号: 80311124

原 康二 (Hara Koji)

高エネ機構・素粒子原子核研究所・研究機  
関講師

研究者番号: 90432236

### (3) 連携研究者

今野 智之 (KONNO Tomoyuki)

高エネ機構・素粒子原子核研究所・研究員

研究者番号: 60751518

小林 愛音 (KOBAYASHI Aine)

高エネ機構・素粒子原子核研究所・研究員

研究者番号: 50794749

PULVERMACHER Christian

高エネ機構・素粒子原子核研究所・研究員

研究者番号: 10788087

### (4) 研究協力者

Christian Kiesling

Ladislav Andricek

Christian Koffmane

Jelena Ninkovic

Hans-Günther Moser

Felix B. Muller

Igor Konorov

Stefan Rummel

Martin Ritter