

# 自動測定サンプルシート作成マニュアル

2021/09/30

## 〔告知〕＜自動測定と自動データ処理の論文リファレンス＞

自動測定Z00およびそのメンバであるKAM0を用いて良いデータが収集、もしくは解析ができた場合には以下の論文をリファレンスとして引用して頂きたいと存じます。

我々のシステムが役に立っているということが評価されれば、さらに高度な放射光利用技術開発へと繋がります。ぜひよろしく願いいたします。

(スタッフ一同)

[1] K. Hirata, K. Yamashita, G. Ueno, Y. Kawano, K. Hasegawa, T. Kumasaka, and M. Yamamoto, “Z00: an automatic data-collection system for high-throughput structure analysis in protein microcrystallography,” *Acta Cryst* (2019). *D75* [doi:10.1107/S2059798318017795], vol. 75, no. 2, pp. 1-13, Jan. 2019.

[2] K. Yamashita, K. Hirata, and M. Yamamoto, “KAM0: towards automated data processing for microcrystals,” *Acta Cryst* (2018). *D74*, 441-449 [doi:10.1107/S2059798318004576], vol. 74, no. 5, pp. 1-9, Apr. 2018.

---

## ＜自動測定サンプルシート＞

自動測定を実施する際には、測定条件を専用のエクセルシートに記述していただきます。自動測定サンプルシートをダウンロードし、編集後、指定の期日までに自動測定担当者 (E-mail: mail-in ※アカウントの後ろに@spring8.or.jp) までお送りください。

その他、お気づきの点・ご不明な点がございましたら、自動測定担当者までお気軽にお問合せください。

## ＜自動測定サンプルシートの命名ルール＞

円滑な管理のために、以下のファイル命名ルールに従って下さい。

### [Z00PREP\\_YMMDD\\_NAME\\_BLNAME.xlsx\(2020/03/25現在有効\)](#)

YYMMDD: 日付 (準備した日付でOKです) 2019/10/02 -> 191002

NAME: 測定者の名前を入力してください。姓名の最初の文字を大文字にして続けて書いて下さい。

所属機関の名称でも結構です。

(名前の文字の中に”\_”を含めないようにしてください)

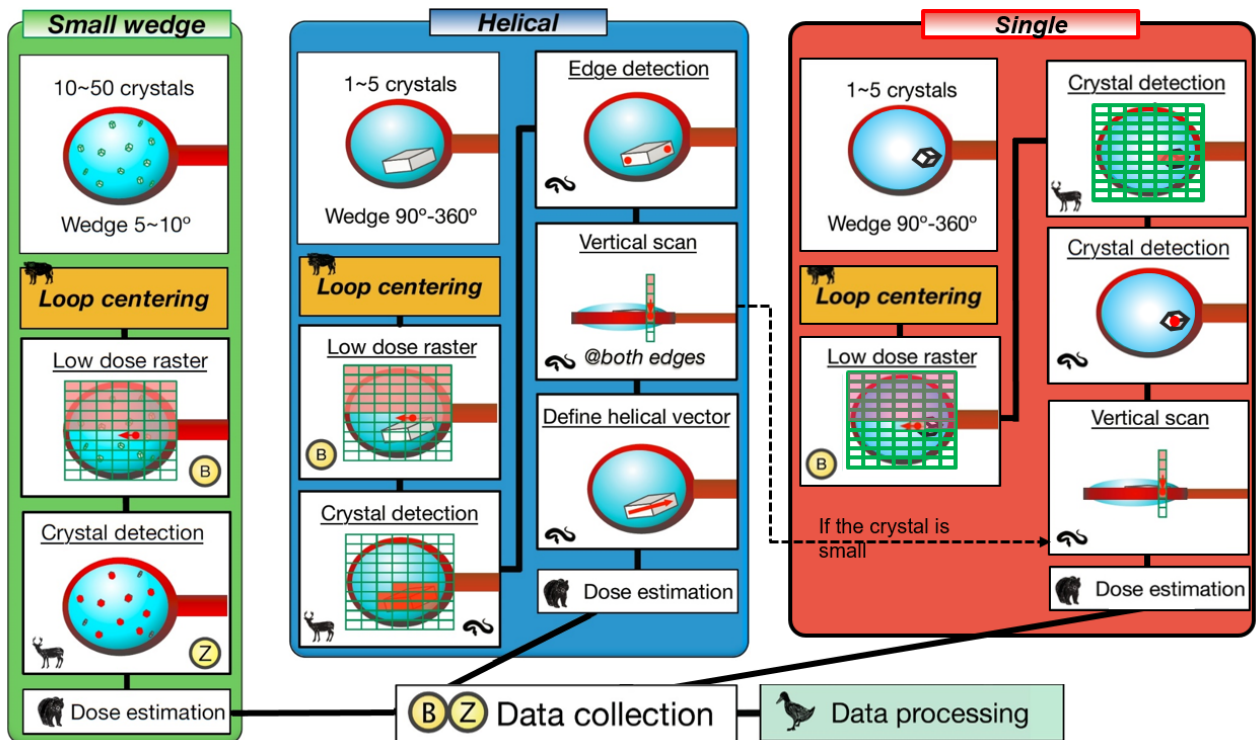
(良い例: Z00PREP\_191002\_KunioHirata\_BL32XU.xlsx)

(悪い例: Z00PREP\_191002\_Kunio\_Hirata\_BL32XU.xlsx)

BLNAME: BL32XU or BL45XU or BL41XU

---

## <ZOO測定の概略>



B BSS 
 Z ZOO navigator 
 INOCC 
 KUMA 
 SHIKA 
 HEBI 
 KAMO

各測定スキームに関してはこちらの図を参照してください(small wedge = multiモード)

## <留意事項>

自動測定は、自動測定サンプルシートに記載された条件を上から順番に測定していきます。優先順位を考慮し、効率的な測定順序をお考え下さい。

現状では実装されていないが、今後実装が検討されている内容

- ある「分解能」以上の回折が得られた場合に測定を実施する
- 複数結晶を用意して、ある結晶でデータが取れたら他の結晶はスキップする
- 0°, 90°方位でのスナップショット

## <自動測定サンプルシートのパラメータについて>

以下各パラメータの意味の説明となります。

- **BeamLine**
  - 測定するビームラインを必ず選択してください。
  - 選択後、後述の Beam size[um] が選択できるようになります。
- **PuckID**
  - Uni-PuckのIDを入力してください。Uni-Puckフタ（金属の多い方，“Sample enclosure”）に刻印されているIDを入力してください。
  - サンプルチェンジャーにセットする際、その刻印と照合します。
  - **CSV上のPuckIDには「ハイフンを使わないでください」**

## ● PinID

- Uni-Puck内でのサンプルピンの位置（番号）
- 後述するように一括入力も可能です。
- PuckID, PinIDが重複する場合、Confirmation required カラムに[警告]が表示されます。重複する箇所を解消してください。

## ● SampleName

- SampleNameが同じものはKAMOで自動マージされます。
- 1結晶でフルデータセットの測定（single/helical）の場合にも適用可能です。
  - どのようなデータも単独の処理が最初に行われます
  - フルデータセットどうしのマージが必要な場合にはその旨お知らせください
  - サンプルが同じでもマージしてほしくないものについてはSampleNameを変えて下さい
  - KAMO\_buttagiri処理（詳細後述）でも複数のサンプル間でSampleNameが同じものがマージされますが、単体での処理はなされません。
- マージの際にディレクトリの名前になりますのでLinux上で通常ディレクトリ  
の名称に使わない文字は使用しないでください。”空白”や”（）”（カ  
ッコ）など。
  - 英数字や\_や-などで工夫して命名してください

## ● Objective

- 測定の目的をプルダウンメニューから選択してください。
- 内容に合わせてスキャン条件、測定条件を決定して最終ファイルの作成を行います。

○ 以下を読んでいただき、ご不明な点はお問い合わせ下さい。

|   | Objective            | 推奨<br>ビームサイズ                                       | Raster scan<br>(塩カバー有がデフォルト@BL45XU)  | Dataset<br>(よく使われるパラメータを例として記載)   |       |
|---|----------------------|--|--|---|-------|
| 1 | normal               | 10x10 - 50x50<br>@BL45XU<br>10(H)x15(V)<br>@BL32XU | 約4 x 10 <sup>10</sup> photons/frameでスキャン<br>ROIでMax res. 5A制限<br>10x10@1A:132kGy, 20x20@1A:33kGy   | ・ Single crystal:360deg<br>(Helical / Single modeの判定は自動)<br>・ Multi crystals: 10deg x crystals  | 10MGy |
| 2 | scan_only            | 10x10 - 50x50<br>@BL45XU<br>10(H)x15(V)<br>@BL32XU | 約4 x 10 <sup>10</sup> photons/frameでスキャン<br>カバー&ROIなしでMax res. 2.5A<br>10x10@1A:132kGy, 20x20@1A:33kGy                                   | 行わない  | 0MGy  |
| 3 | high_dose_scan       | 10x10 - 50x50<br>@BL45XU<br>10(H)x15(V)<br>@BL32XU | Dose 300kGyでスキャン<br>ROIでMax res. 5A制限<br>5x5@1A: 1.15 x 10 <sup>10</sup> photons/frame<br>10x10@1A: 4.5 x 10 <sup>10</sup> photons/frame | ・ Single crystal: 360deg<br>(Helical / Single modeの判定は自動)<br>・ Multi crystals: 10deg x crystals | 10MGy |
| 4 | ultra_high_dose_scan | 5x5 - 20x20<br>@BL45XU<br>10(H)x15(V)<br>@BL32XU   | Dose 1MGyでスキャン<br>ROIでMax res. 5A制限<br>5x5@1A: 3.8x 10 <sup>10</sup> photons/frame<br>10x10@1A: 1.5x 10 <sup>11</sup> photons/frame      | ・ Multi crystals: 10deg x crystals  | 9MGy  |
| 5 | phasing              | 10x10 - 50x50<br>@BL45XU<br>10(H)x15(V)<br>@BL32XU | 約4 x 10 <sup>10</sup> photons/frameでスキャン<br>ROIでMax res. 5A制限<br>10x10@1A:132kGy, 20x20@1A:33kGy<br>10x10@1.5A:324kGy, 20x20@1.5A:81kGy  | ・ Single crystal: 720deg<br>(Helical / Single modeの判定は自動)<br>・ Multi crystals: 10deg x crystals | 5MGy  |
| 6 | rapid                | 20x20 - 50x50<br>@BL45XU<br>10(H)x15(V)<br>@BL32XU | 約4 x 10 <sup>10</sup> photons/frameでスキャン<br>ROIでMax res. 5A制限<br>10x10@1A:132kGy, 20x20@1A:33kGy   | ・ Single crystal: 180deg<br>(測定時間短縮のためSingle mode)  | 10MGy |

● **Mode**

○ multi

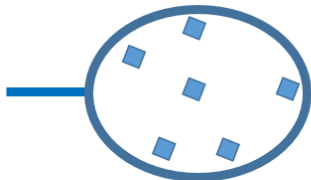
- 1ループに乗っている複数微小結晶から5-10°分のデータを収集しマージして利用します。
- ループがX線から見て最も大きく見える角度±2.5°~5.0

**Multi測定**

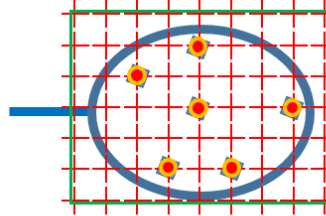
複数の微小結晶がループにマウントされている



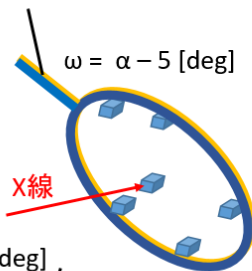
1. INOCCによるループセンタリング。ループの投影面積が最大になるように $\omega$ (ゴニオの角度)がセットされる。 $\omega = \alpha$  [deg] とする。



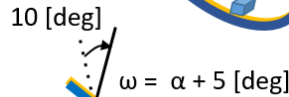
データ測定の振動範囲は  
 $\omega = \alpha - 5 \sim \alpha + 5$  [deg]  
 $\omega$  (total) = 10 [deg] を推奨



2. INOCCによりRaster scan領域□を決定(横幅はHor. scan lengthにより設定)。SHIKAにより各イメージをスコアリング。



3.  $\omega = \alpha - 5$  [deg] から  $\omega = \alpha + 5$  [deg] の間でデータセット測定を行う (@Total osc = 10[deg])



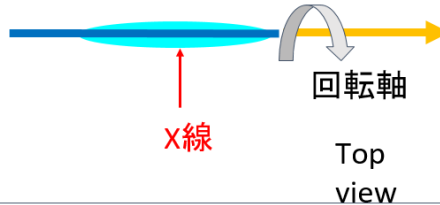
# of crystals / loop の個数分測定を実施する。

測定順はスコア (スポット数) 昇順。

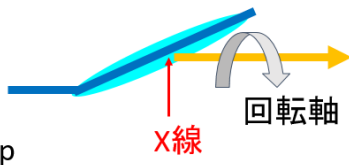
**Multi測定における試料準備の注意点**

ループは極力真っ直ぐな物を使用してください

**最適な形状**

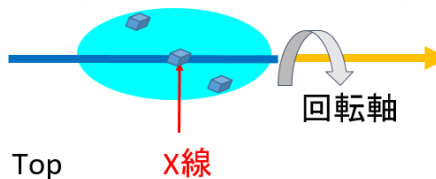


曲がっている場合、ループの左右で回転中心からズれてしまいます。



Top view

溶媒が多い場合、溶媒の厚みで結晶が回転中心からズれてしまいます。



Top view

※Multi測定ではある角度のみで結晶位置検出をするため

○ helical

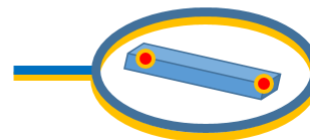
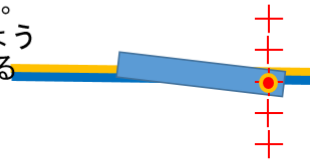
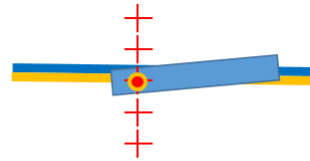
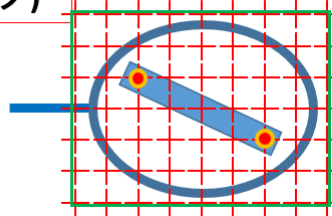
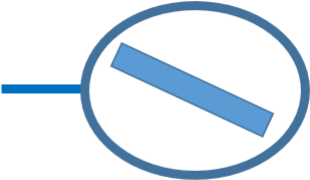
- 結晶サイズがビームサイズよりも大きい場合に結晶の左端から右端に露光点を移動しながら振動写真法でデータ収集を行います。
- 1結晶からフルデータセットを取得します。
- Raster scanの結果、結晶がビームサイズの2倍以上（例：BL45XU 20umビームならば40 um以上）なければsingleモードでの測定に自動的に切り替わります。（結晶サイズでsingle/helicalかを迷った場合はhelicalをご指定ください）

**Helical 測定(センタリング)**

結晶がループにマウントされている



1. INOCCによるループセンタリング。ループの投影面積が最大になるように $\omega$ (ゴニオの角度)がセットされる。 $\omega = \alpha$  [deg] とする。



2. INOCCによりRaster scan領域□を決定(横幅はHor. scan lengthにより設定)。SHIKAIにより各イメージをスコアリング。
3.  $\omega = \alpha - 90$  [deg]にセット。HEBIによりRaster Scanでの左端をVertical Scanする。
4.  $\omega = \alpha + 90$  [deg]にセット。HEBIによりRaster Scanでの右端をVertical Scanする。
5. 3次元的に正確なX線照射位置の左端と右端が得られる。

○ single

- 単点露光で1結晶からフルデータセットを取得します。
- 成果専有測定等、測定スピードを重視する場合以外は選択しないことを推奨しています

### Single 測定(センタリング)

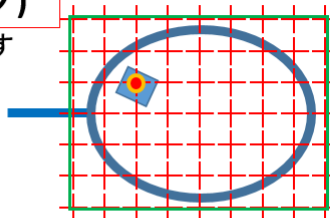
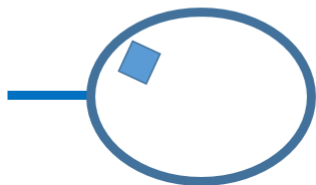
HelicalとSingleは自動で判定されます

Singleと判定された場合

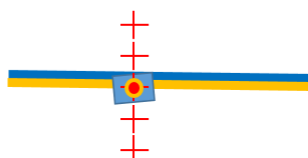
結晶がループに  
マウントされている。



1. INOCCによるループセンタリング。  
ループの投影面積が最大になるように $\omega$ (ゴニオの角度)がセットされる。  
 $\omega = \alpha$  [deg] とする。



2. INOCCにより2D Scan領域□を決定(横幅はHor. scan lengthにより設定)。  
SHIKAによりスキャンイメージをスコアリング。  
スコア閾値を超える点(グリッド)がビーム2個分より小さい場合(横方向に) Single測定を実施。



3.  $\omega = \alpha - 90$  [deg.]にセット。  
HEBIにより Raster ScanのMAX scoreを Vertical Scanする。



4. 3次元的に正確な X線照射位置の左端と右端が得られる。

● HA

- 結晶に金属核種を含み異常分散を利用する(位相決定など)場合、選択してください。
- 含まない場合、もしくは異常分散を利用しない場合は "no" を選択してください。
- 核種を選択した際に、"Wavelength" の欄には、各核種の標準Edge波長から 0.001 Å 程度短い波長(Peak付近の波長)が入力されます。SAD測定の際の参考値としてご利用いただくものであり、理想の値ではありません。随時変更してください。"no" を選択した場合、1.0 Åが入力されます。

● Wavelength


- スキャンと測定の際の波長
- 参考：[http://bioxtal.spring8.or.jp/ja/BL/SPring8\\_PX\\_beamlines.pdf](http://bioxtal.spring8.or.jp/ja/BL/SPring8_PX_beamlines.pdf)
- HAを選択した際に、自動でPeak付近の波長に変更されますので、ご注意ください。なお、波長を手入力した場合、HA選択による波長変更関数が消去されます。必要があれば、他の欄からコピーしてください。
- ビームラインごとに異なりますので上記参照の上、不明な点は自動測定担当者にお問い合わせください。

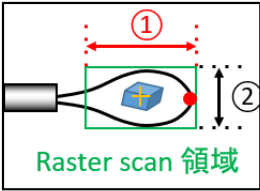


● **Hor. scan length (下の資料もご確認ください)**

- INOCCによるループセンタリング後にスキャン範囲を決めるパラメータ。
  - INOCCはループセンタリングが終了後、ラスタースキャンをする範囲を決定します。
  - 本設定は、スキャンの水平方向（ゴニオメータの回転軸と平行な方向）の長さを決定するパラメータです。
  - Z00はループの先端からこの数値（単位： $\mu\text{m}$ ）の幅分だけスキャンします。
  - ループの長手方向の長さを少し余裕を見て入力すれば良いと思います。（16ページもご参照ください）
  - 縦方向についてはループの形状を自動的に検出し決定します。

**最適なRaster scanに必要な"Hor. scan length" 設定の注意点**

INOCCによるセンタリング動作 

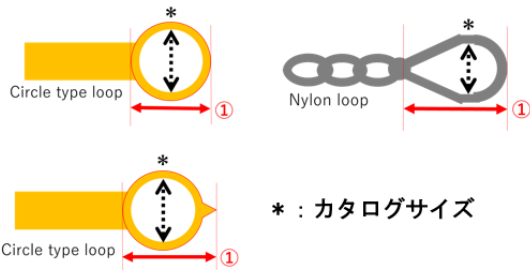


1. サンプルシート(Excel)で指定する"Hor. scan length"で横方向の幅を設定  
 2. INOCCでループ外形が自動検出、設定される

①、②の距離をそれぞれ、ビームサイズで分割して2Dラスタースキャンのグリッド数が決定される

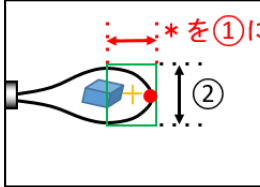
+ ビーム中心  
 ● 先端

ループの種類による入力の注意点  
 必ず、①のサイズを入力してください。



\* : カタログサイズ

Nylon loopの\* : カタログサイズを "Hor. scan length" に設定した場合



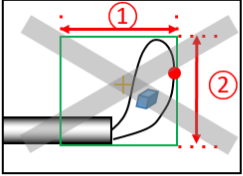
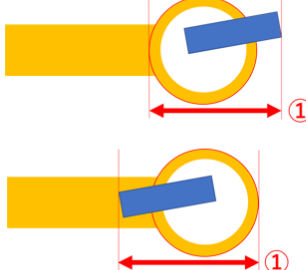

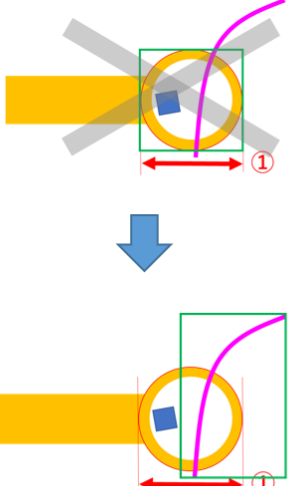
\*を①に設定

結晶がスキャンエリアに入らない可能性がある

結晶がループと根本にもっている可能性がある場合には長めに設定してもOK



## “Hor. scan length” 設定その他注意点

|   |  |  |
|---|--|--|
| <p><b>ループが曲がっている</b></p> <p>ピンの金属部分にX線が当たると強い回折線により<b>検出器が損傷する</b>可能性があります</p>  <p>※古いナイロンループは自動測定には何かと不向きなのでできれば極端に曲がっているものは利用しないようにしてください。</p> | <p><b>結晶がはみ出している</b></p> <p>入力サイズに注意すれば対応可能</p>  <p>回転方向は変更不要</p>  | <p><b>ゴミが付着</b></p> <p>ごみをループの一部と認識してしまう。<br/>想定しているループ部分に照射できない</p>  |
|---|--|--|

### ● Resolution limit

- BeamLine と Wavelength を元にご利用可能な最大分解能がサンプルシートに表示されます。下記の内容を参考に、**値を上書きして設定**してください。
- この設定値は、データ測定時の検出器のedge分解能になります。
- これを元にカメラ長を決定します。
- 「これだけ撮れたら十分」くらいの分解能を入れておくと良いです（欲張り気味に）
- もちろん初めてX線を照射するが「3Å も出ないだろう」という場合に3と入力していただくのも良いです。
- 結晶格子長が長い場合（300 Åを超える場合など）には注意が必要です。その場合は別途お知らせください。
- 特にご指定のない場合は「**2.0Å**」で測定いたします。

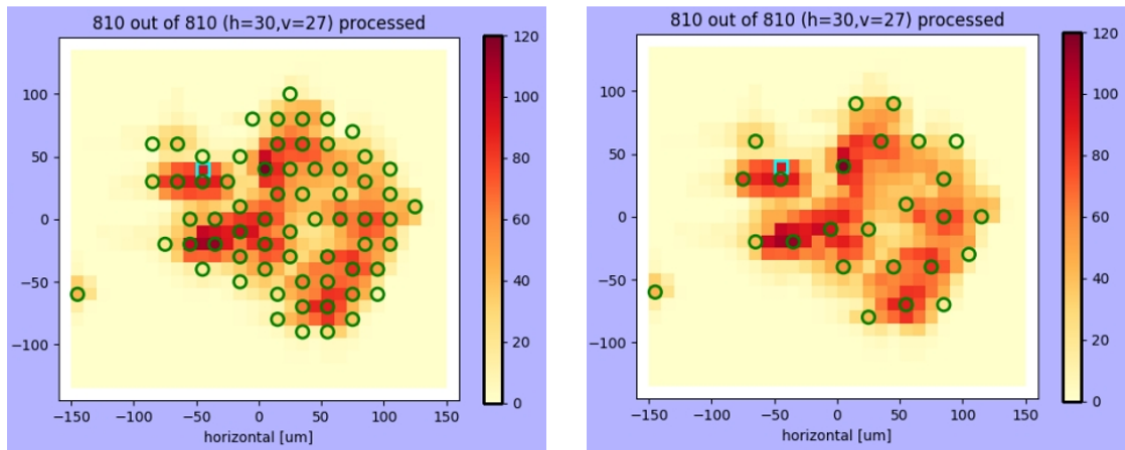
### ● Beam size[um] (H x V)

- 参考：\_\_\_\_\_
- ビームラインごとに異なりますので上記参照の上、不明な点は自動測定担当者にお問い合わせください。
- **ビームサイズの「タテ x ヨコ」について中央の文字を” 半角・小文字のエクソ” にしてください。スペースは入れず、詰めて記入してください。**
  - 例) 10x15
- 次項の Multi測定のBeam size設定 もご確認下さい。

## ● Crystal size

- 結晶サイズ
- multiの場合この設定値が露光点間の最短距離になるので重要です
  - 例) この数値より大きい結晶一つがあった場合、その結晶からはsmall wedgeのデータが2個以上取れることになる（露光点はもちろん異なる）

### Crystal size の設定と X 線照射位置の間隔の例



Crystal size = 20 [ $\mu\text{m}$ ]

Crystal size = 30 [ $\mu\text{m}$ ]

ビームサイズ : 10 x 10 [ $\mu\text{m}$ ]

○ : X線照射位置

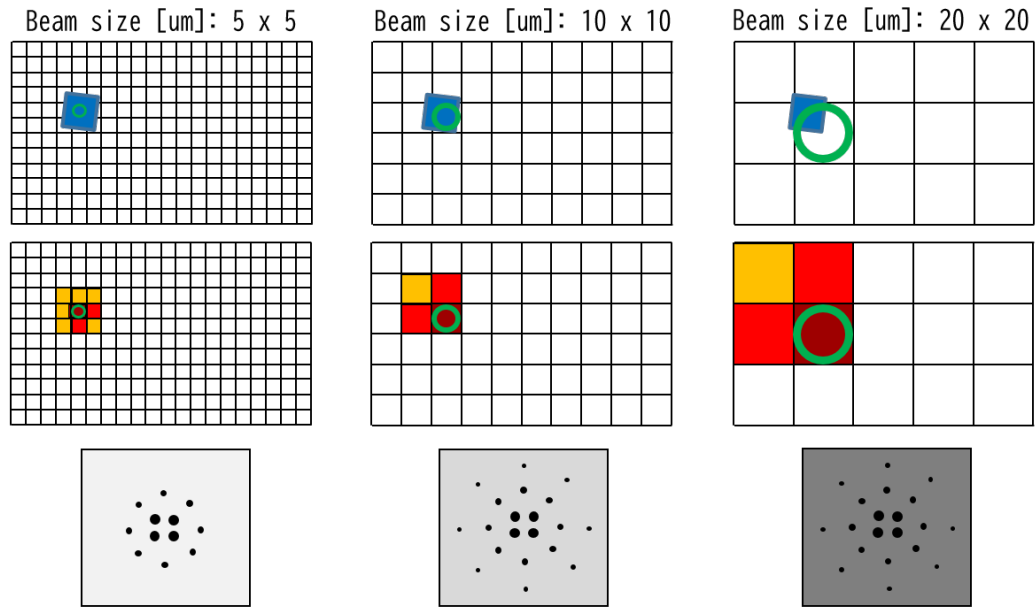
- Beam size よりも Crystal size が小さい場合は、Confirmation required カラムに[警告]が表示されます。結晶の同じ部位にX線を照射する可能性があるためです。結晶サイズよりも大きい Beam size を選択してください。

- 針状もしくは柱状結晶の場合は結晶の短手方向の大きさ（太さ）をご記入ください。

- helical/singleの場合にはラスタースキャンの結果を参照し自動決定しますので大体の数値を参考のため入力してください。

## Mult測定時のBeam size設定について

### 結晶の大きさ: 10 x 10 x 10 [um]程度の場合



結晶の大きさより Beam size が小さいため結晶の体積を生かした測定ができない

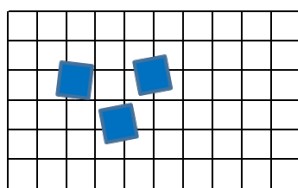
Beam size は結晶の大きさと同程度が好ましい

結晶の大きさより Beam size が大きいため相対的にバックグラウンドノイズが上がりS/Nが低下する可能性がある

■ 10x10x10 [um]程度の結晶   
 ○ Score 最高(データ測定ポジション)   
 ■ Score 中   
 ■ Score 低

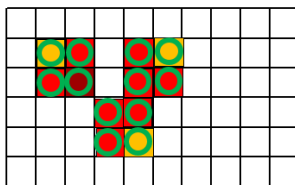
## Mult測定時のCrystal size 設定について

### Beam size: 10 x 10[um] の場合



■ 10x10x10 [um]程度の結晶  
○ データ測定ポジション  
■ Score最高  
■ Score中  
■ Score低

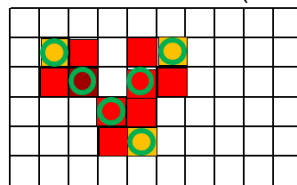
Crystal size  $\leq 10$



照射点数 : 12箇所

近接照射位置への放射線損傷の影響 → **大**  
→ **お勧めしません**

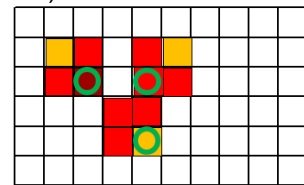
$10 < \text{Crystal size} \leq 10 \times \sqrt{2}$   
( $\approx 14$ )



照射点数 : 6箇所

近接照射位置への放射線損傷の影響 → **中**

$10 \times \sqrt{2} < \text{Crystal size} \leq 20$   
( $\approx 15$ )



照射点数 : 3箇所

近接照射位置への放射線損傷の影響 → **小**

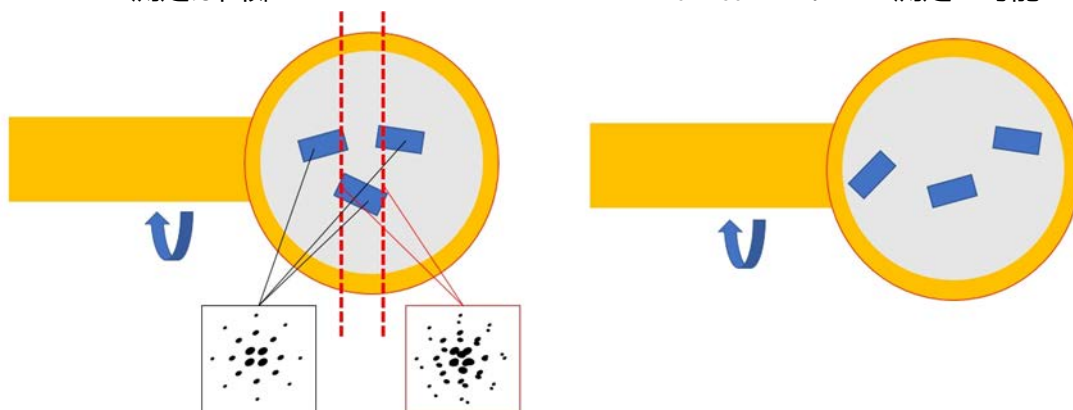
## ● # of crystals / loop

### ○ ループに乗っている結晶の数（見込み）

- multiモードの場合はこの数が1ループあたりのデータ数の上限に設定されます。
- multiモードの場合は、「20」より少なく設定するとConfirmation required カラムに[確認]が表示されます。Redundancy, completenessの確保のため「20」以上に設定することをお勧めします。
- よく分からない場合には「可能性のある」個数をいれて下さい。
- もっとよく分からない場合には「50」や「100」などでも良いと思います。
  - どのような結晶が載っているか不明なので
  - 結晶サイズの設定とも関係して測定時間に影響しますのでご留意下さい（別添資料参照）
  - （注意）数を多く設定したときに起きた惨事：変な回折パターンを出す「なにか」がループ上にたくさんあったら、結晶が無いのに有ると誤判定され、指定した数のぶんだけ無意味なデータデータ収集がなされた。マシンタイムがいたずらに消費されて予定時間に終了しなかった。→対策：素性がよくわからない結晶に対して大きい数値を入れ無いほうが良い。
- helicalモードの場合は「2」以上に設定するとConfirmation required カラムに[確認]が表示されます。X線照射時に複数の結晶が光路上に存在しない場合にのみ利用可能です。その可能性がある場合はmultiモードをご検討ください。  
（「HITO(Mixed)モード」測定もご検討ください。2021/09/23現在）

このような場合はhelicalモードでの測定は困難

結晶の位置が、このような場合のみHelicaモードでの測定が可能

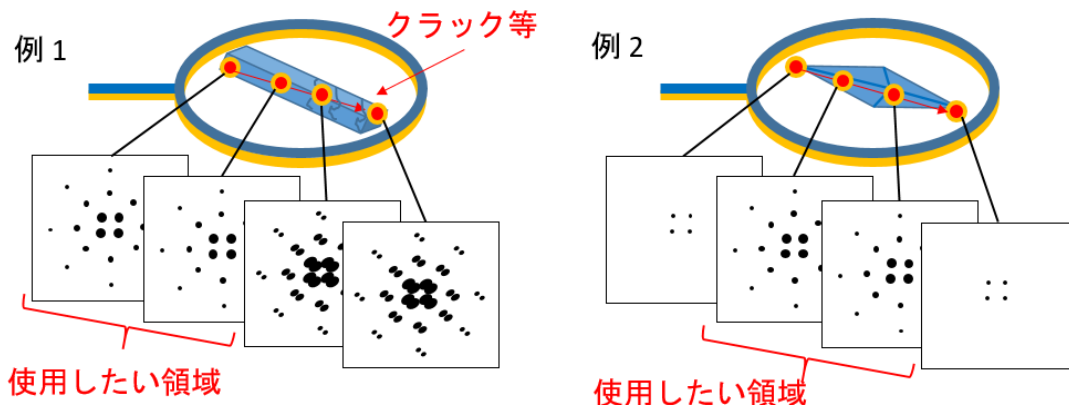


- singleモードの場合は「2」以上に設定するとConfirmation required カラムに[警告]が表示されます。仕様上実施することができません。

## ● Total osc

- データセット測定時の振動範囲 (deg./crystal)
- **multiモードの場合には最大 15°/crystalとしてください (推奨は10°/crystal)**。もし「15」より大きい値に設定するとConfirmation required カラムに[警告]が表示されます。
- **helicalモードの場合は360°以上/crystalを推奨しています**。可能であれば720°/crystal に設定して下さい。もし「360」より小さく設定するとConfirmation required カラムに[警告]が表示されます。現在の仕様は結晶の品質や体積の大小は評価しません。結晶の中に品質の悪い領域がある可能性を見越して振動範囲(Total rotation)を大きく取ることをお勧めします。

■ ヘリカルデータ収集では露光点の並進を伴います。例えば、空間群に対してフルデータセットギリギリの振動範囲で収集した場合、途中で品質が悪い体積があったとき、その部分を棄却すると完全なデータが得られないリスクがあります。



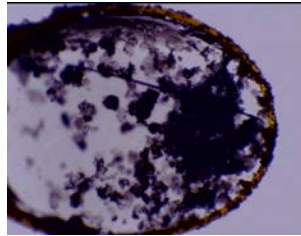
- あらかじめ多めにデータ収集しておくことで、データ処理の際、部分的なデータの取捨選択が容易になります
- helicalモードを実施した場合、通常処理とは別に「データを分断した処理」(通称”ぶった切り処理”)を行います。
- 上述のように「より良いデータのみ取捨選択する」データ処理です。
- データセットを30° (標準設定) 分ずつに分割して独立したデータとして処理を行い、階層的クラスタリング実施後にマージします。
- 分割の意味は「露光位置の違い」でデータを分けているというイメージで捉えてください。
- 特に利用者は意識せず自動でマージしたデータをお返ししますので、結果を通常処理と見比べて良いものを選択して構造解析を進めることができます。
- 通常処理データは\_kamoprocに保存。ぶった切り処理の結果\_kamo\_30degに保存されています。

● Osc. Width

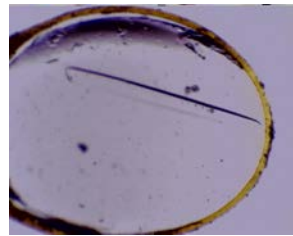
- データセット測定時のフレームあたりの振動幅 (deg.)です。
- 推奨は0.1°です。

● LN2 Splash

- サンプルピンマウント後にLN2を滴下します。設定しておくことで、サンプル表面に霜が付着している場合洗い流します。アイスリングの影響が解消、又は軽減されます。ただしすべての霜が除去できない場合もあります。1サンプルあたり、15sec.程度の時間を要します。  
なおセンタリングにはX線を利用しますので、かならず霜を除去しておかなければいけない訳ではありません。



LN2滴下前



LN2滴下後

*Acta Cryst.* F76(12):616-622 (2020).

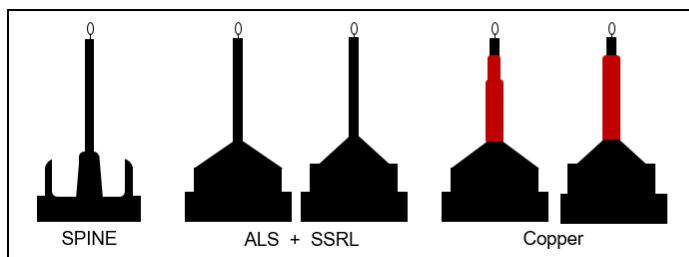
● Pin Type

- サンプルピンの種類(SPINE、ALS+SSRL、Copper、No-wait)を選択して下さい。
- サンプルピンはゴニオメータにマウントされた直後から最大約5分間で最大50μm程度伸長する事が分かっています。伸長する間のWait timeをサンプルピンの種類から指定します。(ピン伸長については文末をご参考ください)

SPINE : 10秒、ALS+SSRL : 20秒、Copper : 60秒、No-wait : 0秒

上記記載の時間以外のWait timeをご希望される方は、自動測定担当者までご連絡ください。

- サンプルピンの種類により伸長の度合いが異なります。Copperタイプは特に伸長するようです。なおSPINEタイプは伸長の度合いが少ないのでお勧めしています。



使用禁止



サンプルチェンジャーが故障します

● Zoom Capture

- 結晶画像を標準の倍率に加えて、高倍率の画像も撮影します。5sec.程度余分に時間を要します。

## <ピンのIDの設定方法> (エクセルの1行に同じ条件でとりたいピンをまとめて指定)

### 1) 範囲はハイフンで指定

1-16

2-5

14-16

など

### 2) 個別指定飛び飛びの場合

「.」 「+」 「;」 (ピリオド、プラス、セミコロン) で番号を続けてください。

(使用禁止文字: 「,」 (CSVファイルなのでカラム内で使うとそこでカラムずれが起きるので禁止))

例)

1+5+10+15 (1と5と10と15を測定)

1.5.10.15 (1と5と10と15を測定)

1;5;10;15 (1と5と10と15を測定)

1-5+10-15 (1から5と10から15を測定)

1-5;10-15 (1から5と10から15を測定)

1-5.10-15 (1から5と10から15を測定)

※ソフトウェアとしては「ピンIDのカラム」の文字列をまず「.」 「+」 「;」 で分断し、その後、範囲指定文字ハイフンを認識します。

※ピンIDはパックを超えて設定することはできません

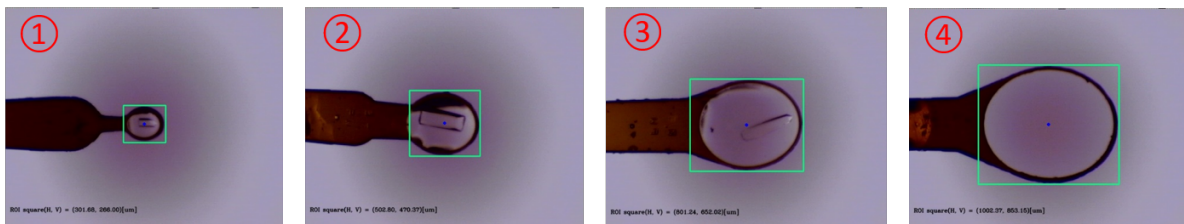
注意: ピン番号の指定カラムでは使用ソフトウェアによっては「月日」などに自動変換される場合もあります。カラムの値設定で「テキスト」などにしてからご利用いただくのが良いと思います。



## リソループのカタログサイズとHor. scan length の設定値

※ Hor. scan lengthの設定はカタログサイズよりひとまわり大きくすることを推奨

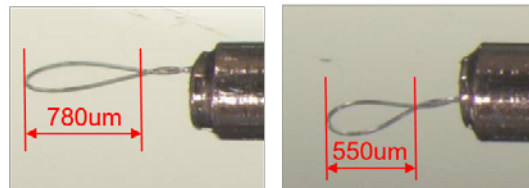
|                       | ①     | ②     | ③     | ④     |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| リソループのカタログサイズ [mm]    | 0.2 Φ | 0.4 Φ | 0.6 Φ | 0.8 Φ |
| Hor. scan length [um] | 300   | 500   | 800   | 1000  |



※ □ : ラスタースキャン範囲 (横方向のサイズがHor. scan length )  
 ※ナイロンループではさらに大きくする必要があります

## ナイロンループのカタログサイズとHor. scan lengthの設定値

同じカタログサイズでも、大きさにはかなりバラツキがある  
 例) どちらも、カタログサイズ0.3 - 0.4[mm]



※ Hor. scan lengthの設定は、カタログサイズより"かなり"大きくすることを推奨

ナイロンループのカタログサイズごとのhor. Scan length [um] の平均値、最大値

| ナイロンループの<br>カタログサイズ[mm]      | 0.05- 0.1 | 0.1-0.2 | 0.2-0.3 | 0.3-0.4 | 0.4-0.5 | 0.5-0.7 |
|------------------------------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Hor. scan length [um]<br>平均値 | 210       | 390     | 570     | 650     | 940     | 1100    |
| Hor. scan length [um]<br>最大値 | 260       | 490     | 690     | 780     | 1020    | 1200    |

※計測数は各サイズ16ピンずつ (0.4-0.5サイズのみ10ピン)

## ZOO自動測定平均測定時間実績 @BL45XU(2020年2月)

1サンプルピンあたりの測定時間(min.)

[Hor. scan length (μm) Vs. Beam size (μm)]

### Single mode

|       | 200 | 400  | 600  | 1000 |
|-------|-----|------|------|------|
| 50x50 | 2.7 | 3.4  | 4.1  | 6.4  |
| 20x20 | 4.2 | 4.8  | 5.8  | 6.3  |
| 10x10 | 4.8 | 6.2  | 8.0  | 10.0 |
| 5x5   | 6.8 | 11.5 | 18.1 | 25.2 |
| 10x50 | 3.8 | 4.1  | 5.4  | 6.9  |

### Helical mode

|       | 200 | 400  | 600  | 1000    |
|-------|-----|------|------|---------|
| 50x50 | 4.4 | 4.8  | 5.5  | no data |
| 20x20 | 4.6 | 5.3  | 6.1  | 7.1     |
| 10x10 | 6.0 | 7.1  | 8.8  | 10.6    |
| 5x5   | 8.1 | 13.4 | 18.9 | 27.2    |
| 10x50 | 3.9 | 4.6  | 6.0  | 8.0     |

### Multi mode

|       | 200  | 400  | 600  | 1000 |
|-------|------|------|------|------|
| 50x50 | 5.9  | 6.5  | 7.1  | 7.4  |
| 20x20 | 6.1  | 6.5  | 7.6  | 7.9  |
| 10x10 | 6.7  | 7.9  | 10.2 | 12.4 |
| 5x5   | 11.1 | 14.5 | 19.4 | 24.7 |
| 10x50 | 6.2  | 7.0  | 8.4  | 9.6  |

Exposure time : 0.02 (sec.) [0.1(sec.) for 50x50 only]

Oscillation width : 0.1 (deg.)

@Single, Helical

Total Oscillation : 180 (deg.)

Max\_hits : 1 (point)

※Max\_hits = Number of beam exposure point

@Small wedge (multi)

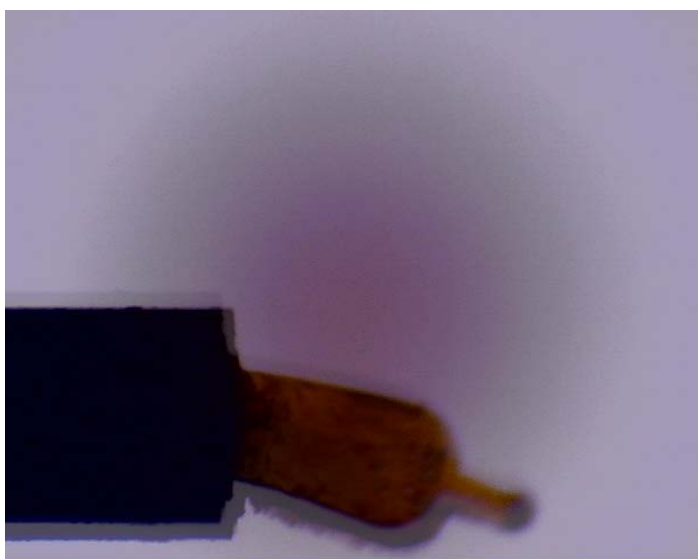
Total Oscillation : 10 (deg.)

Max\_hit : 30 (points)

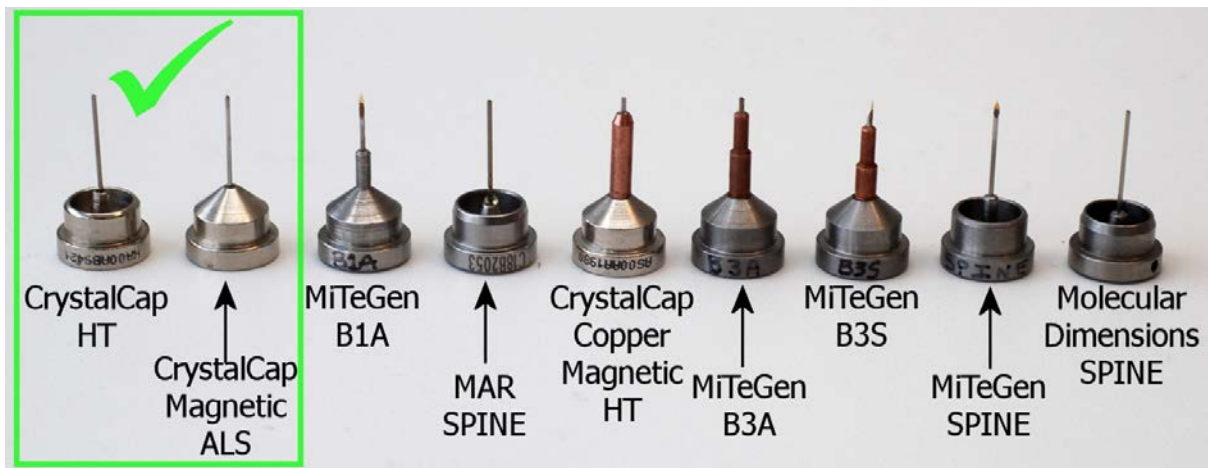
### ・参考

#### <CAUTION>

自動測定を行う場合以下の左下図のようなCuを軸としたピンを利用することはおすすめしません。



右図：ゴニオ上にマウントしたピン（マウント直後 0min → 5min の画像合成）  
このピンの場合、水平方向に50ミクロン、縦方向に36ミクロンのずれが生じていました。  
Cuピンで特に顕著ですが他の種類のピンについても現在調査中です。（2019/07/17）



(<https://lilith.nec.aps.anl.gov/~perry/images/good-bases.jpg>)から拝借

以下はより深く知りたい方のための情報となります。

**難しい結晶のスキャン条件の設定について→塩でないことが前提**

2019/07/19

(Raster scanのDoseを1 MGyにしてData収集のDoseを9MGyなどに設定する)

- 例えば 10 x 10 um beamを利用した場合、Fluxが $9.7 \times 10^{12}$  phs/sec のビームラインを利用するとします。
- Flux density は  $9.7 \times 10^{12} / 10.0 / 10.0 = 9.7 \times 10^{10}$  photons/ $\text{um}^2$
- 波長1Åならば10 MGyが概ね  $2 \times 10^{10}$  photons/ $\text{um}^2$  に相当する
- このDoseに達するのは  $2 \times 10^{10} / 9.7 \times 10^{10} = 0.206$  sec
- 1 MGyのスキャンをしたい場合には、この1/10の露光時間は必要
  - 0.02 sec という露光時間
- この場合、スキャンに要する時間はだいたい400umくらいのループだとして
  - $400 \text{um} / 10 \text{um step} = 40$  points / line
  - $40 \text{ points} * 0.02 \text{sec/points} = 0.8$  sec / line
  - 折返しが2sec程度、行数が  $400 \text{um} / 10 \text{um} = 40$  lines
  - $40 \text{ lines} * (2 + 0.8) \text{ sec/line} = 112$  sec
  - これに見つかった結晶数分、データ収集時間がかかります。
  - $30 \text{ crystals} * 10 \text{ sec} = 300$  sec
  - というわけで400um角のループに30結晶のついていた場合には
  - $112 \text{ sec} + 300 \text{ sec} = 412 \text{ sec/loop}$  かかるという計算
  - だいたい7min/loopということなので1パック2時間程度

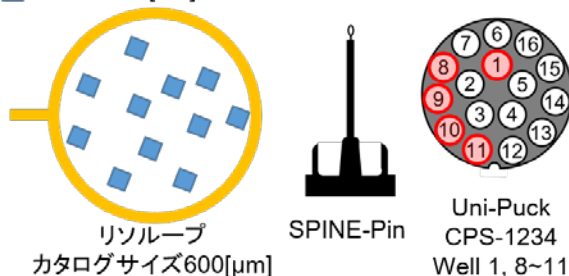
## サンプルシート記入例 1

### 【測定の目的】

複数個の微結晶をSmall wedge で測定する  
Completeness向上の為、複数ピンに凍結保存  
測定後にデータマージする

### 【試料に関する情報】

- 10x10x10 [um]程度の大きさの結晶



- ・サンプル名はEnzymeA
- ・同じシリーズの結晶を5つのサンプルピンに保存した
- ・1ループあたり10程度の結晶をマウントしたと思われる
- ・以前の測定では最大分解能は1.8[Å]であった
- ・サンプルループに霜は付着していないと思われる
- ・高倍率のループ画像を取得したい

| 項目                     | 設定値                        |
|------------------------|----------------------------|
| BeamLine               | BL45XU or BL32XU or BL41XU |
| PuckID                 | CPS1234                    |
| SampleName             | EnzymeA                    |
| PinID                  | 1,8-11 ←まとめた表記も可能          |
| Objective              | normal                     |
| Mode                   | multi                      |
| HA                     | no                         |
| Wavelength [Å]         | 1.0                        |
| Hor. scan length [μm]  | 800                        |
| Resolution limit [Å]   | 1.4 ←よくばり気味がお勧め            |
| Beam size [μm] (H x V) | 10x10                      |
| Crystal size [μm]      | 15                         |
| # of crystals / Loop   | 30 ←よくばり気味がお勧め             |
| Total osc              | 10                         |
| Osc. Width             | 0.1                        |
| LN2 Splash             | No                         |
| PIN Type               | SPINE                      |
| Zoom Capture           | Yes                        |

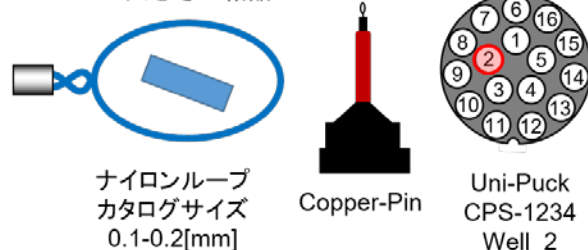
## サンプルシート記入例 2

### 【測定の目的】

1個の結晶からデータセットを取得したい  
初めての測定なので空間群、分解能不明

### 【試料に関する情報】

- 30x30x90 [um]程度の大きさの結晶



- ・実サンプル名はEnzymeBだが仮にSample2とした
- ・1ループあたり1個の結晶をマウントした
- ・初めての測定なので空間群、分解能とも不明
- ・サンプルループに霜が付着していると思われる
- ・高倍率のループ画像を取得したい

| 項目                     | 設定値                        |
|------------------------|----------------------------|
| BeamLine               | BL45XU or BL32XU or BL41XU |
| PuckID                 | CPS1234                    |
| SampleName             | Sample2                    |
| PinID                  | 2                          |
| Objective              | normal                     |
| Mode                   | helical                    |
| HA                     | no                         |
| Wavelength [Å]         | 1.0                        |
| Hor. scan length [μm]  | 400                        |
| Resolution limit [Å]   | 1.2 ←よくばり気味がお勧め            |
| Beam size [μm] (H x V) | 20x20                      |
| Crystal size [μm]      | 30 ←helicalの場合およその値でよい     |
| # of crystals / Loop   | 1                          |
| Total osc              | 720                        |
| Osc. Width             | 0.1                        |
| LN2 Splash             | Yes ←BL45XUのみ              |
| PIN Type               | Copper                     |
| Zoom Capture           | Yes                        |

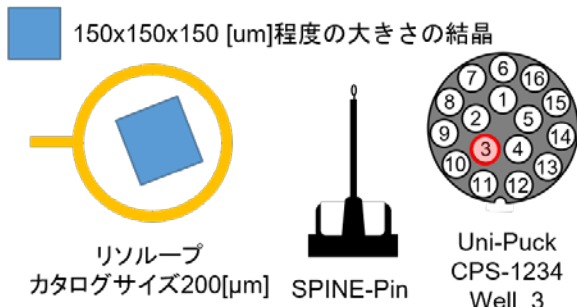


## サンプルシート記入例 3

### 【測定の目的】

化合物スクリーニングを行っており、サンプル数が多いため1サンプルピンあたりの測定時間をできるだけ短くしたい

### 【試料に関する情報】



- ・1ループあたり1個の結晶をマウントした
- ・空間群はP222と分かっている
- ・サンプルループに霜が付着しているかもしれない
- ・高倍率のループ画像は不要

※ただし、singleモード測定は成果専有課題等、時間の制約がある場合のみご利用ください。自動測定では、より高Doseの入射が見込まれ、データの取捨選択が容易なhelicalモードをお勧めしています

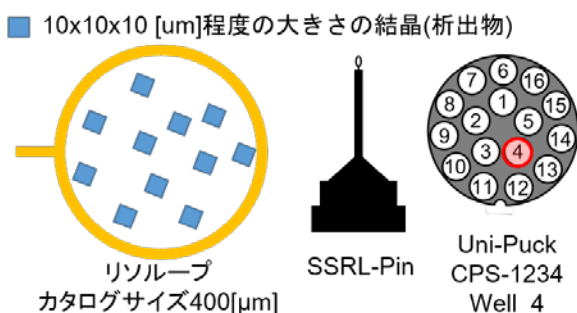
| 項目                     | 設定値                        |
|------------------------|----------------------------|
| BeamLine               | BL45XU or BL32XU or BL41XU |
| PuckID                 | CPS1234                    |
| SampleName             | Crystal_03                 |
| PinID                  | 3                          |
| Objective              | normal                     |
| Mode                   | single                     |
| HA                     | no                         |
| Wavelength [Å]         | 1.0                        |
| Hor. scan length [μm]  | 300                        |
| Resolution limit [Å]   | 1.2 ←よくばり気味がお勧め            |
| Beam size [μm] (H x V) | 50x50 ←各BLでの最大サイズを選択       |
| Crystal size [μm]      | 30 ←singleの場合およその値でよい      |
| # of crystals / Loop   | 1                          |
| Total osc              | 180                        |
| Osc. Width             | 0.1                        |
| LN2 Splash             | No                         |
| PIN Type               | SPINE                      |
| Zoom Capture           | No                         |

## サンプルシート記入例 4

### 【測定の目的】

目的タンパク質由来の結晶であるか分からない複数の微結晶（析出物）を回折チェックしたい（データ測定は行わない）

### 【試料に関する情報】



- ・10程度の結晶(析出物)をマウントしたと思われる

| 項目                     | 設定値                        |
|------------------------|----------------------------|
| BeamLine               | BL45XU or BL32XU or BL41XU |
| PuckID                 | CPS1234                    |
| SampleName             | Sample-D                   |
| PinID                  | 4                          |
| Objective              | scan_only                  |
| Mode                   | multi                      |
| HA                     | no                         |
| Wavelength [Å]         | 1.0                        |
| Hor. scan length [μm]  | 500                        |
| Resolution limit [Å]   | 1.2                        |
| Beam size [μm] (H x V) | 10x10                      |
| Crystal size [μm]      | 15                         |
| # of crystals / Loop   | 30                         |
| Total osc              | 10                         |
| Osc. Width             | 0.1                        |
| LN2 Splash             | No                         |
| PIN Type               | ALS + SSRL                 |
| Zoom Capture           | No                         |

---

## 更新情報

- 2019/10/05 Z00測定条件シートの命名ルールを追記しました
  - 2020/03/03 平田作成 from Evernote (Evernoteは廃止→新規リリースに合わせて)
  - 2020/03/25 Bioxtal HPへ掲載
  - 2020/04/05 BeamLine (パラメータ) の追記
  - 2020/04/08 ScanDoseの変更 (normal:  $2 \times 10^{10}$  photon/frame →  $4 \times 10^{10}$  photon/frame)
  - 2020/09/30 Sample Sheet の改定に関する項目 (Resolution limitの記入, 警告表示)
  - 2020/12/03 LN2 Splash について写真 (使用前後の例) を追加
  - 2021/03/18 multi測定時のBeam size, Crystal size 設定の説明を追記
  - 2021/09/30 ナイロンループの Hor. scan length説明を追加, multi測定時の説明を修正  
Helicalモードで #of crystals / loop が “2” 以上の設定の説明を追記  
Helicalモードで可能であれば  $720^\circ$  を推奨することを明記  
サンプルシート記入例を追記
-