

トピックス

CCD 型 X 線検出器

伊藤 和輝¹, 雨宮 慶幸²

¹筑波大学物質工学系,

²東京大学大学院新領域創成科学研究科物質系専攻*

CCD-based X-ray Detectors

Kazuki ITO and Yoshiyuki AMEMIYA

*Institute of Materials Science, Univ. of Tsukuba and
Graduate School of Frontier Sciences, The Univ. of Tokyo*

We have developed two types of CCD (charge-coupled device)-based X-ray detectors for time-resolved and real-time experiments with use of synchrotron radiation; one consists of a beryllium-windowed X-ray image-intensifier (Be-XR11) and a CCD. It has an extremely high detective quantum efficiency (DQE) and is optimized for time-resolved diffraction/scattering experiments. The other is composed of 3×6 arrayed CCD modules, each of which consists of a phosphor, a fiber optic-taper (FOT), and a CCD. It allows us to measure successive static X-ray diffraction patterns without intermission for the CCD readout, and is optimized for automated macromolecular crystallography. These detectors have image distortions and non-uniformity of response. However, these problems can be successfully resolved by the software which we have developed.

In this issue, first, the designs and performance characteristics of the CCD-based X-ray detectors will be shown. Secondly, the correction method for image distortions and non-uniformity of response will be shown and discussed. Finally, some applications of these detectors will be shown.

1. はじめに

1980年代半ばからイメージングプレート (Imaging Plate, IP) が放射光を用いた X 線回折実験に利用されるようになり¹⁾, 現在でも広く用いられている。IP は積分型の X 線検出器であり, 大強度の X 線入射に対して数え落としの問題がない。また, 高感度, 大面積, 広いダイナミックレンジ, 取り扱いの容易さなど, 優れた特徴を有する検出器である。しかし, 基本的にフィルム法であり, 読み取りに数分程度の時間を要するため, 時間分割測定や実時間測定には適していない。このような欠点を克服する検出器として, CCD (Charge Coupled Device) 型 X 線検出器が期待され, IP が不得意とする応用実験で IP に取って替わろうとしている。特に, タンパク質結晶構造解析では, 解析すべきタンパク質の種類や研究者の数の増加に伴い, 「測定の自動化」に対する要求が強くなり, CCD 型 X 線検出器に対する期待が大きい。

このような状況のもと, 我々は IP と同等な高い感度を有し, かつ, 時間分割測定や実時間測定が可能な二次元 X 線検出器の開発を行ってきた。時間分割測定用に開発したシステムは, 20 keV 以下でも高い感度を有するベリリウム窓付 X 線イメージンシファイヤー (Be 窓 X 線 II) と各種 CCD をリレーレンズで組み合わせて使用できる検出器システムである。実時間測定可能なシステムは, タンパク質結晶構造解析実験用に開発したもので, 蛍光体, 縮小型光ファイバー (Fiber-Optic Taper, FOT), 冷却型 CCD を組み合わせたユニットを大面積化のために複数個アレイ状に並べたシステムである。

本稿では, これら 2 種類のタイプの CCD 型 X 線検出器の構造と性能について述べる。ここでは前者のタイプを X 線 II-CCD 検出器, 後者のタイプを FOT-CCD 検出器と呼ぶことにする。どちらのタイプの CCD 型 X 線検出器においても, 測定された画像には画像歪みと感度の不均一

* 東京大学大学院工学系研究科物理工学専攻 〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1
TEL: 03-5841-6825 FAX: 03-5841-6949 E-mail: amemiya@kohsai.t.u-tokyo.ac.jp

性の問題が伴う。従って、X線の入射位置とその強度の定量を必要とするX線回折・散乱実験に応用するためには、これらの問題を補正するソフトウェアを開発する必要がある。この補正法について解説し、最後に、これらのCCD型X線検出器の応用例を紹介する。

2. CCDを用いるX線検出器

2.1 CCDの動作原理と性能

可視光用の撮像素子が、ビジコンなどの真空管式撮像管から固体撮像素子のCCDに置き換わることにより、小型化し性能が向上した。CCDが撮像管に比べて優れている性能は、ダイナミックレンジが広い(4桁)、強度の直線性が良い、画像歪みがない、感度の均一性が良い、外部磁場の影響を受けない、の点である。

CCDは光ダイオードを二次元的に配列した固体撮像素子で、光が入射した場所に電子・正孔対が生じる。生じた電子・正孔対は隣の画素に逐次、縦方向、横方向に転送され、1つの出口から1次元の時系列信号として読み出される。CCDにはフレームトランスファー(FT)型とインターライン(IL)型がある。それぞれの構造と読み出し方式の模式図をFig. 1に示す。FT型は開口率がほぼ100%であるのに対して、IL型はオンチップレンズなどを用いても開口率は70%程度である。また、FT型は読み出し時に遮光する必要があるが、IL型は露光部と読み出し部(転送部)が分離されているので露光と読み出しを同時に行うことが可能である。標準的な科学計測用CCDはFT型で、画素サイズは10~20 μm 角、画素数は1000 \times 1000程度、有効面積は10~20mm角程度である。CCDはX線に対しても感度を有するが、空乏層が3 μm 程度²⁾しかないため、10 keV程度のX線に対する感度は極めて低い。空乏層が50 μm 以上の直接照射型X線CCDも米国では開発されているが有効面積が小さいため、回折・散乱実験には用いられていない。また、仮に有効面積の大きなCCDが開発されたとしても、広いダイナミックレンジを得るためにはX線を一度可視光に変換してCCDに照射するのが

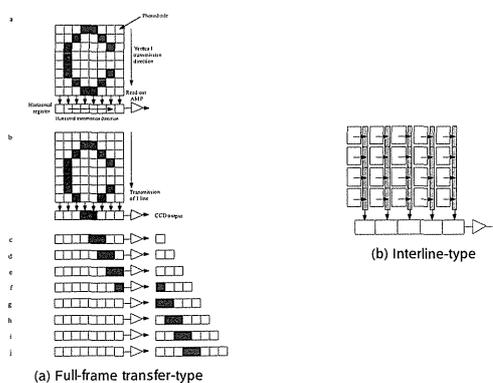


Figure 1. Schematic drawing of CCD readout: (a) Full-frame transfer, (b) Interline transfer.

得策である。その理由は、X線を直接CCDに照射した場合、10 keVのX線に対して約3000個の電子・正孔対が生じ、各画素に蓄積できる電子・正孔対の容量(10万~100万個)を考慮すると、ダイナミックレンジが30~300になってしまうからである。これに対して可視光に変換してX線光子あたり数個の電子・正孔対をCCDに生じるとすれば、広いダイナミックレンジ(4桁~5桁)を得ることができる。CCDは通常、暗電流を減らすためにペルチェ素子などを用いて冷却して使用する(暗電流は温度を7度下げると約1/2になる)。

2.2 CCD型X線検出器の種類

前述のように、広いダイナミックレンジと大きな有効面積を得るためにX線を可視光に変換してCCDに入射させる必要がある。この方法には2種類あり、1つは、感度を稼ぐためにイメージンテンシファイヤを用いて強度増倍(Intensification)を行いながらX線を可視光に変換し、かつ、像の縮小を行ってCCDに結像する方法、もう一つは、蛍光体で可視光に変換した後、縮小型光ファイバーまたは光学レンズを用いて像の縮小を行いCCDに結像する方法である。前者は、高感度であるので、主に時間分割のX線回折・散乱実験に適している。後者は、安定した動作性が得られるので、タンパク質結晶構造解析の自動測定に適している。

3. X線II-CCD検出器

ベリリウム窓X線イメージンテンシファイヤ(以後、Be窓X線II)とCCDを組み合わせたX線検出器は、(1)ベリリウム窓を有するX線イメージンテンシファイヤ、(2)結合レンズ系、(3)撮像素子、および(4)データ収集系、から構成されている。Figure 2に撮像素子として冷却CCDを用いた場合のシステム構成図を示す。

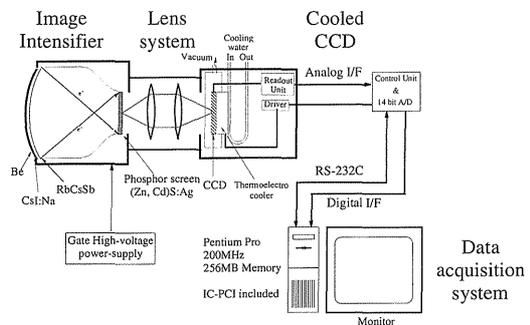


Figure 2. Configuration of an XII-CCD detector. The detector consists of (i) an X-ray image-intensifier (XII) which has a beryllium entrance window (150 or 230 mm in diameter), (ii) an optical lens coupling, (iii) a CCD as an image sensor, (iv) a computer as a data acquisition system. An X-ray image-intensifier is intensified, demagnified, and focused on the CCD. The CCD has 1000 (H) \times 1008 (V) pixels with a 12 μm \times 12 μm size.

3.1 ベリリウム窓 X 線イメージインテンシファイヤー (Be窓 X 線Ⅱ)

Be窓 X 線Ⅱの役割は、(1) X 線像を CCD の小さな有効面積に縮小すること、(2) その際、検出量子効率を落さないこと、(3) X 線から可視光へ変換することにより CCD のダイナミックレンジを入射 X 線光子数に対して最適化すること、である。

X 線Ⅱには当初、有効径100 mm の可視光Ⅱを蛍光板と組み合わせたものを用いた³⁾。しかし、100 mm の有効径では、広角領域まで回折像を記録できないことから、さらに有効面積の大きなものを実現する必要があった。そこで、口径の大きな医用 X 線Ⅱの窓材をアルミニウムからベリリウムに改造して、X 線回折実験用の X 線Ⅱを製作することにした。医用 X 線Ⅱでは、8 keV の X 線の99%以上が窓で吸収されてしまう。アルミニウムの代わりにベリリウムを用い、かつ、窓と支持基板を1枚のベリリウム(厚さ1 mm)で兼用すれば、8 keV の X 線に対する吸収は20%以下になる。製作した Be 窓 X 線Ⅱの有効径は150 mm (6 インチ)⁴⁾と230 mm (9 インチ)の2種類である(表1)。最近は100 mm (4 インチ)のものも市販されている。Be 窓 X 線Ⅱでは150 μm 厚のヨウ化セシウム蛍光体(CsI:Na)が直接ベリリウム窓に密着している。ヨウ化セシウム結晶は蛍光面の垂直方向に伸びた円筒状に結晶成長させて作成されており、蛍光体中の面内方向への散乱を最小限に抑えるように工夫されている(図3)。バイアルカリ(RbCsSb)光電陰極は、蛍光体面の内側表面上に蒸着されている。入射 X 線は、ベリリウム窓を透過し、蛍光体によって可視光に変換され、さらに光電陰極により光電子に変換される。光電子は Be 窓 X 線Ⅱ内に印加された電場(25 kV)によって加速され、出力面の蛍光体に入射することにより強度増倍された可視光像を作り出す。入力面および出力面の蛍光体の時間応答特性が、この X 線検出器の時間分解能を決める要因とな

Table 1. Lineup of beryllium-windowed X-ray image-intensifiers at Photon Factory

	6-inch	6-inch (new)	9-inch
Window material	beryllium (1 mm ²)	beryllium (1 mm ²)	beryllium (1 mm ²)
Active area size	150 mm ^φ	150 mm ^φ	230 mm ^φ
Input phosphor	CsI: Na (0.15 mm ²)	CsI: Na (0.15 mm ²)	CsI: Na (0.15 mm ²)
Photo cathode	RbCsSb	RbCsSb	RbCsSb
Output phosphor	P-20: (Zn, Cd)S: Ag	P-43: Gd ₂ O ₂ S: Tb	P-20: (Zn, Cd)S: Ag
Reduction ratio	150:15 (M=0.1)	150:13 (M=0.087)	230:25 (M=0.11)
Contrast ratio	20:1	20:1	16.3:1

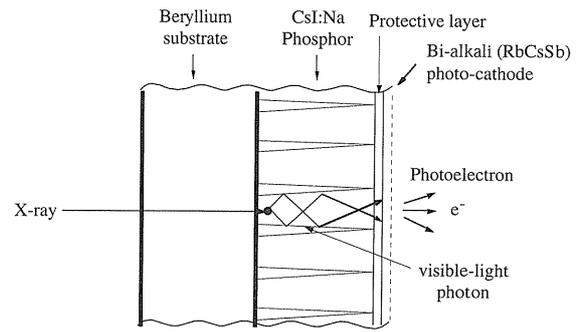


Figure 3. Detailed structure of a beryllium window, CsI:Na phosphor, and a photocathode of the X-ray image-intensifier. The CsI:Na phosphor crystals are made with columnar shapes so that undesired scattering in the phosphor is minimized. Beryllium thickness: 1 mm, CsI:Na thickness: 150 μm.

る。また、Be 窓 X 線Ⅱの入射窓の凸型形状や蛍光体の塗りムラなどによって、得られた画像には大きな画像歪みと感度の不均一性が生じる。

Be 窓 X 線Ⅱに印加されている電場をゲートの的に変化させることで、X 線Ⅱを高速の X 線シャッターのように用いることができる。これを利用して X 線回折像の時間変化をスナップ・ショット的に測定することが可能になり、サブミリ秒領域の時間分解能を実現することができる。

Be 窓を用いた X 線Ⅱは ESRF でも我々とは独立に製作され使用されている⁵⁾。

3.2 結合レンズ系

結合レンズを介して CCD を取り付けているため、目的に応じて撮像素子を容易に交換することができる。結合レンズ系は、リレーレンズ、絞り、およびフィリップス型固定治具から構成されている。この固定治具により CCD と X 線Ⅱの相対的な位置の再現性が保証される。また、絞りは後ろに取り付ける CCD のノイズレベルに合わせて、検出器系のダイナミックレンジを最大にするように調節できる。結合レンズの代わりに光ファイバーを用いると光の伝達効率は高くなるが、撮像素子の交換が容易ではないので、我々のシステムでは採用していない。

3.3 撮像素子

X 線回折・散乱像は X 線Ⅱによって可視光像に変換され、結合レンズ系によって撮像素子上に結像される。撮像素子は変換された X 線回折像をアナログ信号またはデジタル信号として出力する。撮像素子には主に CCD を使用するが、撮像管を取り付けることもできる。現在用いている撮像素子の性能を Table 2 にまとめる。

回折・散乱像の静止画を記録する場合には、冷却 CCD (1000×1018画素, TI 製)、動画の記録にはインターライン方式 CCD (656×494画素, SONY 製, NTSC 出力) を取りつけて使用する。冷却 CCD はペルチェ素子を用いて

Table 2. Lineup of CCD's coupled with Be-XR11

	Cooled CCD	High speed CCD	NTSC-mode CCD
CCD chip	TC-215 (TI)	ICX-061 (SONY)	ICX-074 (SONY)
Readout mechanism	Frame transfer-type	Interline-type	Interline-type
Pixel format	12 $\mu\text{m} \times 12 \mu\text{m}$ 1000 \times 1018	6.7 $\mu\text{m} \times 6.7 \mu\text{m}$ 1280 \times 1024	9.9 $\mu\text{m} \times 9.9 \mu\text{m}$ 656 \times 494
Active area size	12.0 mm \times 12.2 mm	8.58 mm \times 6.86 mm	6.49 mm \times 4.89 mm
Readout noise	10 e ⁻ rms@250 kHz 48 e ⁻ rms@10 MHz	13 e ⁻ rms	
Dark current	0.06 e ⁻ /pixel/s@-40°C	10 e ⁻ /pixel/s@25°C	
Cooling	Peltier device	Not support	Not support
Dynanic range	6 $\times 10^4$	1 $\times 10^3$	56 dB
Full-well capacity	60,000	13,000	30,000-50,000
Readout speed	4 sec (SLOW: 14 bit) 0.14 sec (FAST: 10 bit)	0.077 sec (no binning) 0.004 sec (64 binning)	NTSC-mode

-40度に冷却され、暗電流は読み出しノイズに比べて無視できるほど小さく抑えられている。CCDからの出力は14ビットでデジタル化され、インターライン方式 CCDの出力はNTSC信号フォーマットである。ビデオカメラなどの民生用の技術であったインターライン型 CCDを科学計測用に利用する試みがここ数年で急速に伸びつつある。すでに1280 \times 1024画素の科学計測用インターライン方式 CCDも登場し、読み出しノイズや暗電流などの特性もフルフレーム方式と遜色のない CCDが手に入るようになった (Table 2)。これによりNTSC信号フォーマットに変換せずに、26コマ/秒 (512 \times 512画素モード)の速度で直接電荷をデジタル信号に変換することができ、時間分割測定に利用できるようになった。

3.4 データ収集系

CCDからのデジタル信号またはNTSC信号は、データ収集装置によって記録される。デジタル信号の場合、画像専用メモリを搭載した画像専用取り込みボード (フレームグラバ) をパソコンなどに装着して記録する。NTSC信号の場合には12ビットのA/Dコンバータを搭載した専用画像取り込み装置を用いて毎秒30コマの動画を記録する方式とデジタルビデオで録画する方式がある。この部分は科学計測用インターライン方式 CCDの登場によりフル・デジタル化されていくであろう。

3.5 性能⁶⁾

検出器の位置分解能は直径150 mm (6インチ)のBe窓 X線 IIでは0.27 mm、直径230 mm (9インチ)のBe窓 X線 IIでは0.35 mmである。撮像素子に冷却 CCDを用いた場合、読み出しノイズ、暗電流ともに十分に小さいため、数秒から数分の時間にわたって蓄積でき、微弱な信

号をIP以上の高感度で得ることができる。また、約4桁の入射 X線に渡って良い直線性を示す。読み出しノイズは10電子 rmsであるのに対して、8 keVの X線 1個が作る信号量は6インチ Be窓 X線 IIでは220電子 (9インチ Be窓 X線 IIでは60電子)に及ぶので単一の X線光子の検出も可能である。通常は X線光子 1個が作る信号量がノイズレベルと同程度になるように絞りで調節し、ダイナミックレンジを最適化する。冷却 CCDのダイナミックレンジは6000 : 1である。また、冷却 CCDの読み出し時間は4秒である。一方、NTSCモードのインターライン方式 CCDの場合は、読み出しノイズレベルは1個の X線光子の作る信号レベルと同程度である。このことは X線回折像を1秒に30コマの動画像として記録する場合でも高いSN比で記録できることを意味する。Be窓 X線 IIにはピン・クッション型の画像歪みが存在する。画像歪みを画素サイズのばらつきとして定義すると、IPの画像歪みが約0.1%であるのに対して、X線 II-CCD検出器は約11%である。しかし、この画像歪みはソフトウェアで補正することにより約1%程度にまで低減することが可能である。

4. アレイ状 CCD 型 X線検出器 (FOT-CCD 検出器)

蛍光体と縮小型光ファイバー (FOT) と冷却 CCDを組み合わせたシステムの構成図を Fig. 4 に示す。蛍光体は、P-43 (GdO₂S₂ : Tb) をアルミマイラの上に塗布し、それを FOT の大きい端面に密着させている。縮小型光ファイバー (FOT) は、光ファイバーを束ねたものを引き伸ばして製作される。FOT は米国 Schott 社製のものを用いた。

FOTの縮小率を大きくすることで、より大きな面積の

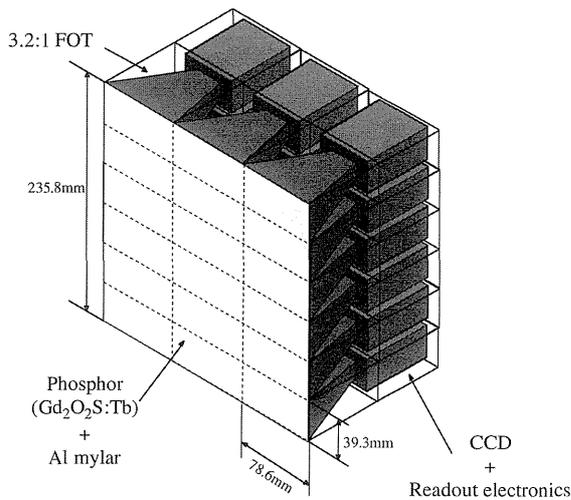


Figure 4. Schematic drawing of an arrayed CCD-based X-ray detector (in the case of 3×6 modules).

X線像を CCD に結像でき、有効面積をかせぐことができる。しかし縮小率を大きくするほど、透過率が低下するため、高感度の CCD 型 X線検出器を実現するためには、3~4:1の縮小率が限度である。縮小率と透過率の目安は、以下の通りである。

縮小率	透過率
1:1	75%
2:1	20%
3:1	13%
4:1	9%

我々は、3.2:1の縮小率の FOT を採用した。FOT には画像歪みが伴うので、この歪みをソフトウェアで補正する必要がある。

同様な検出器は、Gruner をはじめいくつかのグループで製作され⁷⁻⁹⁾、また最近はいくつかのメーカーから市販されている。

4.1 特徴

通常の科学計測用 CCD はフルフレーム方式で読み出しを行っている。すなわち、Fig. 1 に示したとおり、全面積が光受光部として使用される。これに対して民生用 CCD は受光部と電荷転送部が交互に入れ子になっており、インターライン方式で読み出しが行われる。このため開口率が低くなるが、瞬時に電荷を受光部から転送部に転送できるので、連続撮影が可能になる。事実、民生用 CCD は、通常 1 秒間に 30 コマで像を撮影することができる。我々は、当初、民生用 CCD を受光部に用いることを検討した。開口率が低く、感度は多少犠牲になるものの、露光と読み出しが同時に行え、連続撮影が可能であるからである。しかし、前述のように読み出しノイズが高いため、特注の CCD を生産しない限り、科学計測用 CCD と同等の

ノイズレベルは実現しないことが判明した。そのためには設備投資だけでも 1 億円以上が必要であり、将来の開発課題として先送りすることとした。そこで、露光と読み出しを同時に行う方法として、フルフレーム方式 CCD を受光部と転送部に 2 分割したハーフフルフレーム方式 CCD を採用することにした。Figure 5 にハーフフルフレーム方式 CCD の概念図を示す。1024×1024画素の CCD の上半分が受光部、下部が転送部として用いられる。受光部から転送部に電荷を転送する時間は 1.6 ミリ秒である。転送部に送られた電荷は約 2 秒かけて計算機に転送される。読み出しと同時に受光部に次の回折像を蓄積することができるので、実質的に読み出し時間による時間のロスはなく、連続撮影が可能になる。ただし、受光部として使用できる面積が半分になるので、X線に対する受光面積も半分になる。そこで、CCD をタイルのように二次元的に配列させて面積を大きくする必要がある。我々は、2×2 個の配列のアレイ状 CCD 型 X線検出器を試作し、アレイ化する際の技術的な問題点について詳細な R & D を行った。この経験を踏まえて、3×6 個の配列のアレイ状 CCD 型 X線検出器を製作した。製作した 3×6 アレイ状 CCD 型 X線検出器の写真を Fig. 6 に示す。

FOT-CCD 検出器をユニットとしたアレイ状 CCD 型

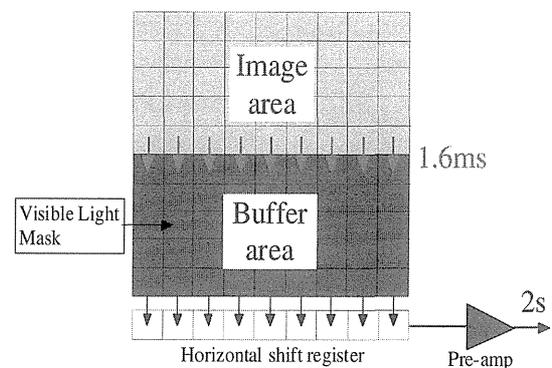


Figure 5. Half-full frame transfer CCD.

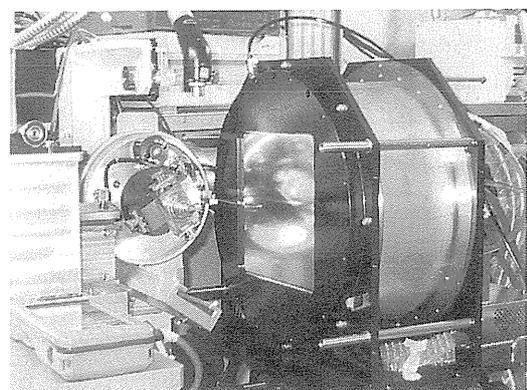


Figure 6. Photograph of the 3×6 arrayed CCD-based X-ray detector in the BL-6A.

X線検出器は、X線II-CCD検出器に比べて、次のような特徴を持つ。1)大面積化が可能、2)大面積化しても高い位置分解能が得られる、3)すべて固体素子を使用しているので動作が安定している、4)感度の不均一性が少ない、5)画像歪みが少ない、6)凹型形状にできる可能性がある。また、IPと比較して、1)実時間測定が可能である、2)露光と読み出しを同時に行えるので、duty cycleが100%である、という点が特徴である。このduty cycleが100%であるという特徴は、市販の他のアレイ状CCD型X線検出器に比べても際立った特徴である。

4.2 性能

2×2および3×6アレイ状CCD型X線検出器は、ユニット数は異なるがユニットの構造自体は同じである。このような拡張性(スケーラビリティ)を有することがこの検出器の特徴である。位置分解能は約100 μ mであり、ダイナミックレンジは約4桁である。

1996年にシアトルで行われた国際結晶学会の検出器のセッションでは、FOT-CCD検出器とIPの優劣が議論的になった。一部の欧米の研究者らは、FOT-CCD検出器のデータの方がIPのデータに比べて、特に広角領域のデータで勝っている、と結論している。しかし、我々が感度およびS/Nで比較する限り、IPの方がFOT-CCD検出器に比べて感度が高い。我々が行ったCCD型X線検出器とIPの感度の比較実験の結果をFig. 7に示す。Figure 7にはX線II-CCD検出器の結果を併せて示してある。感度はDQE (Detective Quantum Efficiency)を用いると定量的に評価できる。DQEに関する詳細は¹⁰⁾を参照されたい。DQEで感度を比較すると、感度の高い順に、X線II-CCD検出器、IP、FOT-CCD検出器と結論づけることができる。単純なS/N比の比較からも、同じ結論が得られる。すなわち、1個のX線光子が作る信号量 (Sig-

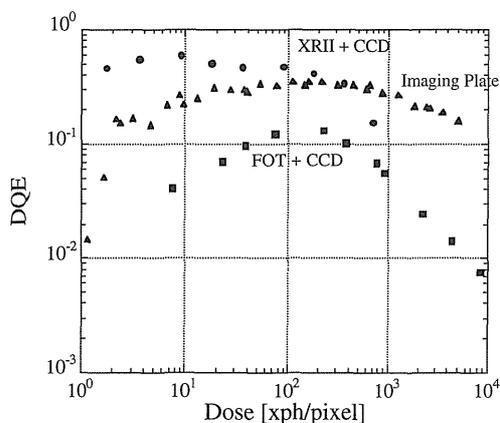


Figure 7. Comparison of the DQE's between three different x-ray area detectors, 9-inch beryllium-windowed x-ray image-intensifier which is coupled cooled CCD (XRII-CCD), fiber-optic taper which is coupled S5466 cooled CCD (FOT-CCD), and BAS III (IP) which is read by Fuji Film BAS2000 imaging plate reader.

nal/xph) と揺らぎノイズ (RMS noise) の比を比較すると Table 3 のようになる。

では、欧米の研究者らの結果と我々の結果の相違はどこから来るのであろうか? 検出器自体のS/N比はIPの方が優れている。しかし、X線光学系や試料結晶に由来する寄生散乱がFOT-CCD検出器を用いる測定では少なく済むことが原因であると考えられる。すなわち、FOT-CCD検出器を用いる場合、1枚の回折像あたりの試料結晶の回転角は、IPを用いる場合の1/10程度である。従って、光学系や試料から来る寄生散乱の大きさは1枚の回折像あたり1/10程度になる。検出器ノイズも寄生散乱も同等にデータの質を劣化させるので、検出器ノイズが小さくても、それを上回る寄生散乱がある場合、データの質は寄生散乱で規定されてしまう。特にX線線量の小さな領域で、すなわち、広角領域でその影響が大きい。

5. 画像歪み及び感度の不均一性の補正法

X線II-CCD検出器にはX線IIの入射窓の凸型形状、静電レンズの取差、および外部磁場の影響などにより大きな画像歪みが存在する。また、画像歪みにともなう実効的な画素サイズの変化、蛍光体の塗りムラ、および斜め入射などによる感度不均一性も存在する。同様に、FOT-CCD検出器についてもFOTやCCDとFOTの位置関係などにより得られた画像に歪みが生じる。また、画素サイズの変化や蛍光体の塗りムラなどによる感度の不均一性も存在する。X線回折・散乱実験では回折・散乱X線の位置と強度の定量性が重要であるので、これらの画像歪みや感度不均一性は大きな障害となる。我々はこのような画像歪みおよび感度不均一性を除去するためのソフトウェアを開発した¹¹⁾。同様な研究はBrandeis大学のStanton¹²⁾や、ESRFのHammersley¹³⁾らによっても行われている。ここでは、我々の採用した画像歪みや感度不均一性の補正法について述べる。また、X線II-CCD検出器については扇形マスクによるコントラストの改善法についても述べる。

5.1 画像歪み補正

画像歪みの補正は実際の実験と同一の条件下で行われることが望ましい。これは測定器への外場の影響が実際の実験条件に近いほうがより正確な補正を行うことができるからである。

画像歪み補正は Fig. 8 の左側の手順のように行われる。

Table 3. Comparison of signal (1 X-ray photon) to RMS noise ratio

	Signal (1 xph)/RMS noise
XRII-CCD	5-10
Imaging plate	1-3
FOT-CCD	0.3-1

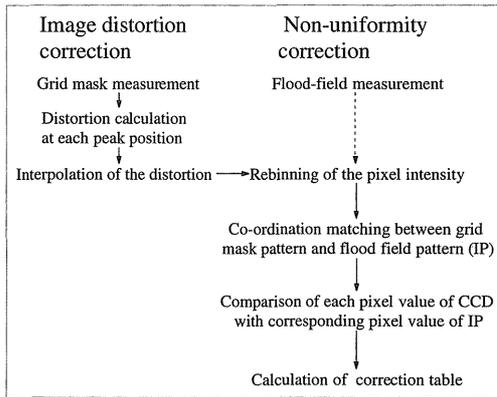


Figure 8. Procedure of the image and non-uniformity correction of the CCD-based X-ray detector.

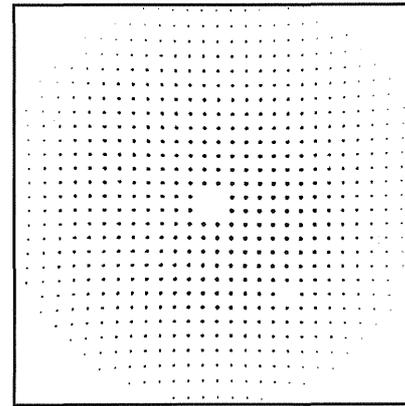


Figure 9. Grid mask pattern taken by the CCD-based X-ray detector.

最初に格子状に穴の開いたマスクを検出器前面に置いて、広い領域に散乱が出るガラス状カーボン¹⁴⁾を試料位置に置く。マスクパターンをガラス状カーボンからの散乱 X 線にて露光し、実際のマスクの穴の位置と得られた画像上での穴の位置との差を画像歪みとする。ガラス状カーボンを用いて X 線 II-CCD 検出器によって得られたマスクパターン像を **Fig. 9** に示す。歪み量の計算は次式のようになる。

$$\begin{aligned}
 D_{i,j}^{(x)}[\text{mm}] &= (P_{i,j}^{(x)} - P_{i_0,j_0}^{(x)}) \times \bar{p}^{(x)}[\text{mm/pixel}] \\
 &\quad - (i - i_0) \times \bar{h}[\text{mm}] \\
 D_{i,j}^{(y)}[\text{mm}] &= (P_{i,j}^{(y)} - P_{i_0,j_0}^{(y)}) \times \bar{p}^{(y)}[\text{mm/pixel}] \\
 &\quad - (j - j_0) \times \bar{h}[\text{mm}]
 \end{aligned} \quad (1)$$

ここで、 $D_{i,j}^{(x)}$, $D_{i,j}^{(y)}$ ピーク番号 (i, j) の X 軸および Y 軸方向における歪み量を表し、X 軸および Y 軸は CCD のラスタと一致するように定義する。また、 $P_{i,j}^{(x)}$, $P_{i,j}^{(y)}$ はピーク番号 (i, j) のピークの位置座標を表し、 i_0, j_0 は歪み量 0 の基準位置のピーク番号である。 \bar{h} はマスクパターンの穴と穴の間隔である。 $\bar{p}^{(x)}$, $\bar{p}^{(y)}$ は歪みのない画像の画素サイズであり、歪み量の二乗和

$$\sum_i \sum_j (D_{i,j}^{(x)})^2, \sum_i \sum_j (D_{i,j}^{(y)})^2$$

を最小化するように決める。

式(1)で得られた歪み量の情報はマスクの穴の位置での歪み量であるため、これを適当な関数系で近似し補間することによって各画素及び画素の内部での歪み量を得ることができる。歪み量分布はなめらかであると仮定すると、この近似には二次元スプライン関数を用いることができる。ここではスプライン補間の手法として表面スプライン補間¹⁵⁾を用いた。開発した画像歪み補正では表面スプライン補間を使って歪み量分布の近似および補間を行い各画素ごとの画像歪みの計算と除去を行う。

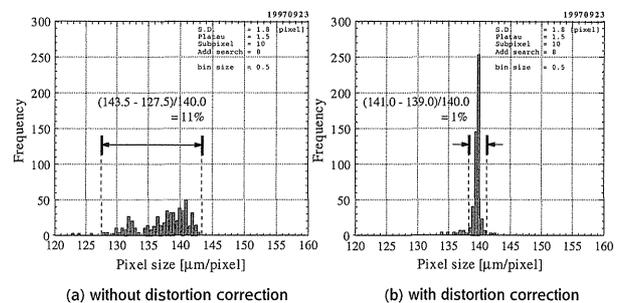


Figure 10. Results of image distortion calibration, (a) without correction, and (b) with correction. These histograms are calculated from distances between neighboring peaks of the grid mask image.

画像歪みは画素サイズのばらつきであるとも言える。補正の効果を検証するために画素サイズの分布の評価を行った。**Figure 10**に画素サイズの分布を示す。補正前のばらつきが約11%あったものが補正後には約1%に改善されたことがわかる。すなわち、この補正が画素サイズを均一化するかわり画像歪みを除去したと言える。補正後の画素サイズの分布に若干の裾が見られるが、画像の辺縁部のデータの処理によるものであると考えられる。

5.2 感度の不均一性補正

感度不均一性は、画像歪みによる実効的な画素サイズの変化、蛍光体の塗布ムラおよびベリリウム窓の吸収などに起因する。画像歪みや感度不均一性の補正は、実際の実験と同一の環境下で行われなければ精密な補正を行うことはできない。これまでに放射性同位体や蛍光 X 線を用いて感度不均一性を補正する方法^{5,16,17)}が提案されたが、いずれも特定の波長しか使用することができないという欠点があった。我々はガラス状カーボンからの散乱を用いて、画像歪みが少なく感度の均一性に優れた IP を基準とする感度不均一性の補正法を開発した。この方法は任意の波長で補正を行うことが可能である、という特徴を持つ。

感度不均一性の補正は2つのステップに分けられる。最初のステップでは、画像歪みによる実効的な画素サイズの変化による画素値の補正を行う。これを画素値の再分配 (Rebinning) と呼ぶ。次のステップでは IP を基準として各画素の感度そのものの補正を行う。**Figure 11**は画素値の再分配を模式的に説明した図である。画像歪みのない、投影された歪んだ画素と歪みのない正画素との重なりを1, 2, 3, 4と番号をつける。画素値の再分配とは、これらの重なり合う面積に応じて元の画素の画素値を再分配することである。このような手法が必要になる場面は、例えば画像の回転を行った場合などに現れる。しかし、この重なり の大きさを正確に計算することは難しい。そこで、画素を微小要素に分割して近似する方法を採用した。各画素の感度そのものの補正については IP によって得られた基準画像と CCD 型 X 線検出器で得られた画像を各画素ごとに比較し、補正テーブルを作成する。

5.3 コントラスト補正

Be 窓 X 線 II によって得られるコントラストは 1:40 から 1:100 程度であり、これをそのまま広いダイナミックレンジの必要な X 線溶液散乱実験などに用いることができないと言われてきた。この BeX 線 II のコントラストを低下させる要因としては、1) Be 窓 X 線 II 内部での散乱、2) 出力蛍光面での反射、3) レンズ系での散乱、などが考えられる。藤沢らによって Be 窓 X 線 II を X 線溶液散乱実験に用いた場合の問題点が指摘された¹⁸⁾。藤沢らの方法では Be 窓 X 線 II の入射面を異なる半径の同心円状マスクを使って入射光量を制限し、後ほど散乱パターンをつなぎ合わせることでコントラストを改善している。しかし、この方法では複数回の露光と得られた散乱パターンをつなぎ合わせる必要がある。我々はこの点を改良し **Fig. 12** のようにおうぎ形マスクを利用したコントラストの改

善法を開発した¹⁹⁾。この原理は次の通りである。おうぎ形マスクの部分には X 線が入射しないため信号は 0 になるはずだが、実際には BeX 線 II の内部の散乱などにより信号が乗ってしまう。我々はこの信号をコントラストの低下分とみなし、マスクされていない領域からこの信号を引き算することでコントラストを改善した。この補正を行う前には 1:50 程度であったコントラストが補正によって 1:1000 程度にまで回復する。この方法では 1 回の露光でコントラストが改善された散乱パターンを得ることができるため、文献¹⁸⁾の方法に比べて測定回数を数分の 1 にできる利点がある。

6. 応用

6.1 時分割 X 線回折実験

X 線 II-CCD 検出器をカエル骨格筋の時分割 X 線回折実験へ応用した例を紹介する。**Figure 13**はカエル骨格筋に電気刺激を加える前と加えた直後の X 線回折像である。実験はつくば市にある物質構造科学研究所放射光研究施設 BL-15A にて行われた。このように、X 線 II-CCD 検出器を利用することによって、時分割 X 線回折実験が可能になった。

6.2 X 線溶液散乱実験

X 線溶液散乱法は溶液中分子の分子サイズと形状に関する情報を得ることができ、タンパク質のフォールディング機構の研究などに利用されている。これまでは主に一次元の位置敏感ガス比例計数管 (PSPC) が X 線溶液散乱実験に使用されてきた。しかし、一次元であるためにデータの収集効率が悪く、また、タンパク質によっては収量に制限があるものもあるため、効率的なデータ測定方法の開発が必要であった。X 線 II-CCD 検出器を用い得られたデータを円周積分すれば、PSPC で得られる S/N 比を上回るデータをより短い測定時間で得ることが可能である。

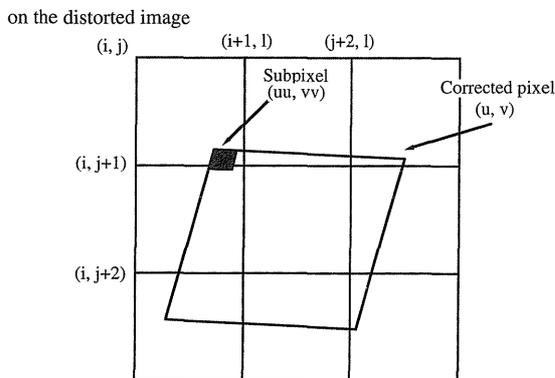


Figure 11. Example of the projection from a distorted image to an undistorted image. When a pixel in a distorted image is mapped to a rectangular pixel in the undistorted image, a small rebinning error will be made in assigning its intensity to the correct pixel in the undistorted image because the sides of the mapped pixel should actually be curved line segments.

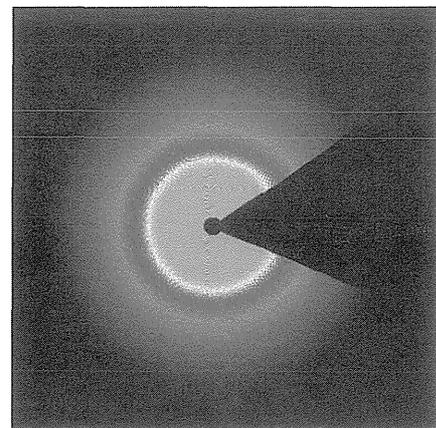


Figure 12. Method to correct the contrast reduction of the Be-XR II by using a fan shape mask (see text).



Figure 13. X-ray diffraction patterns of frog muscle taken by the XII-CCD X-ray detector with a time resolution of 30 ms.

Figure 14はGroEL溶液からの散乱をX線II-CCD検出器とPSPCとで比較したものである。X線II-CCD検出器で得られたデータが約4倍の露光時間で得られたPSPCのものよりもS/N比が良いことがわかる。

6.3 タンパク質結晶構造解析

我々が開発したアレイ状CCD型X線検出器は露光と読み出しを同時に行うことができるので、結晶の回転を止めることなく回折データの収集を行うことが可能である。実験はPF・BL-6Aにて行った。結晶の回転速度は $1^\circ/200$ 秒、 $1^\circ/\text{フレーム}$ として波長 1.0 \AA 、カメラ長 270 mm にて測定を行った。得られた回折パターンをFig. 15に示す。積分にはmosflmを用いて 2 \AA 分解能でRmerge=9.0%という値が得られている。空間群はP212121、格子定数は 80.645 \AA , 107.039 \AA , 270.827 \AA であった。これは他の検出器で得られた値 80.794 \AA , 107.095 \AA , 270.861 \AA とほぼ一致する。これに位相を与えて電子密度図に直したものがFig. 16である。溶媒分子まではっきりと見えていることがわかる。

このようにタンパク質結晶用いて結晶の回転を止めることなく連続的に回折データを収集して構造解析を行った例は筆者らの知る限りでは世界で初めてのものである。この成功はタンパク質結晶構造解析を行うための回折データの収集時間を飛躍的に短縮する可能性を持つものとして期待される。

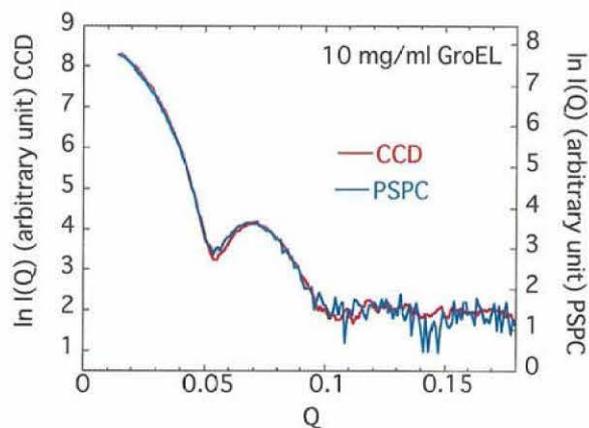


Figure 14. Solution scattering patterns from GroEL taken by the CCD (170 s) and PSPC (800 s).

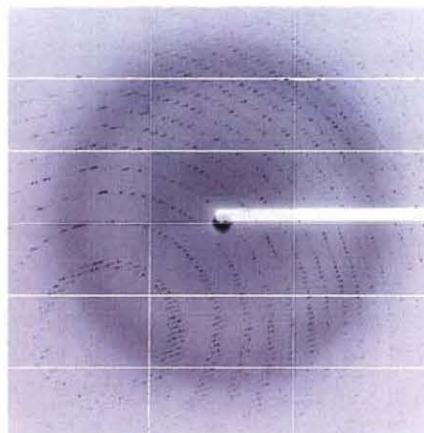


Figure 15. Diffraction pattern from a protein crystal (sample-detector length is 270 mm , wavelength is 1 \AA , exposure time is 200 s).

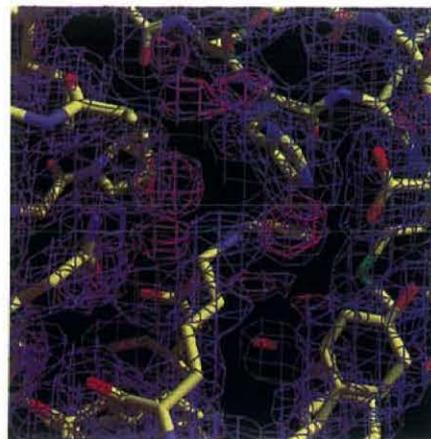


Figure 16. Electron density map of a protein crystal with a resolution of 2 \AA .

7. まとめ

我々が開発した X 線 II-CCD 検出器と FOT-CCD 検出器について解説した。それぞれの検出器の用途は異なり、X 線 II-CCD 検出器はその高い感度と時間分解能を生かした時分割 X 線回折・散乱実験に応用することを目的としている。FOT-CCD 検出器をアレイ化した検出器はタンパク質結晶構造解析のためのデータ収集効率を向上させることを目的としている。

X 線 II-CCD 検出器は、高感度、高時間分解能という特徴を有するが画像歪みと感度の不均一性が存在する。また、BeX 線 II 内部の散乱などによってコントラストが低下する現象が起こる。我々はこれらを補正するソフトウェアを開発し、扇形マスクによるコントラストの改善法を開発した。これにより、さまざまな時分割 X 線回折・散乱実験に応用できるようになり成果を挙げている。

構造生物学における蛋白質結晶構造解析は、ドラッグデザインへの応用など基礎・応用の両面から期待されている。しかし、これまでに行われてきたイメージングプレートによる方法では 1 つの結晶の回折データを収集するために半日近くを要する。放射光の有効利用や結晶へのダメージの低減という観点から回折データの収集時間を短縮することは重要である。ここ数年、FOT-CCD 型検出器の登場により測定時間は数分の 1 になった。ただ、現在市販されている FOT-CCD 型検出器に使用されている CCD 素子はすべてフルフレーム転送方式であり、画像の読み出しと露光を同時に行うことができない。そのため、露光時間が短くなるに従い読み出しに要するオーバーヘッドが問題になってくる。我々が開発したアレイ状 CCD 型 X 線検出器では、露光と読み出しを同時に行うことが可能なので、Duty-cycle 比 (測定時間に占める露光時間の割合) が 100% であり、試料結晶の回転を止めることなく回折データを連続的に取り込むことができる。この検出器と第 3 世代の放射光光源を組み合わせれば、回折データの収集時間を飛躍的に短縮することが可能である。

しかし、CCD 型 X 線検出器は全ての点で IP に勝っているわけではない。有効面積は小さく、画像歪みや感度不均一性などをソフトウェアで補正しなければならない欠点がある。結論的に言えば、回折・散乱実験の目的に応じて使用する検出器を選択することが重要である。今後 10 年程度は IP と CCD 型 X 線検出器は回折・散乱実験用検出器の双璧であり続けると思われる。

謝辞

X 線 II-CCD 検出器の開発は、PF、SPring-8 との共同研究によって行われた。また、アレイ状 CCD 型 X 線検出器の開発は、文部省科学研究費重点領域研究 (領域代表

者: 坂部知平), PF および未来開拓学術推進事業の援助によって行われた。また、これらは浜松ホトニクス(株)の協力によって実現したものである。

X 線 II-CCD 検出器の画像歪み補正と感度の不均一性の補正に関しては、八木直人氏 (JASRI)、遠藤哲朗氏 (浜松ホトニクス(株)) との共同研究である。また、応用例に関しては、4.1 は若林研 (阪大・基礎工)、4.2 は上久保裕生氏 (PF)、桑島研 (東大・理)、4.3 は若槻壮市氏、鈴木守氏、五十嵐教之氏 (PF)、東常行氏 (理学電機)、中川敦史氏 (阪大・蛋白研) の協力を得て行われたものであり、ここに感謝いたします。また、回折データ及び電子密度図の使用を快諾して下さった中村和郎氏、田中信忠氏 (昭和大学・薬) に感謝いたします。

参考文献

- 1) Y. Amemiya: *J. Synchrotron Rad.* **2**, 13 (1995).
- 2) H. Tsunemi, K. Mizukata and M. Hiramatsu: *Jpn. J. Appl. Phys.* **27**, 670 (1988).
- 3) Y. Amemiya, N. Yagi, S. Kishimoto, T. Oguchi, M. Suzuki, Y. Ohnishi and K. Wakabayashi: *Proc. Synchrotron Rad. Biosciences.* 395 (1994).
- 4) Y. Amemiya, K. Ito, N. Yagi, Y. Asano, K. Wakabayashi, T. Ueki and T. Endo: *Rev. Sci. Instrum.* **66**(2), 2290 (1995).
- 5) J. P. Moy: *Nucl. Instrum. Methods A348*, 641 (1994).
- 6) K. Ito: Doctoral thesis, The Graduate University for Advanced Studies, (1997).
- 7) M. G. Strauss, E. M. Westbrook, I. Naday, T. A. Coleman, M. L. Westbrook, D. J. Travis, R. M. Sweet, J. W. Pflugrath and M. Stanton: *Nucl. Instrum. Methods A297*, 275, (1990).
- 8) M. W. Tate, E. F. Eikenberry, S. L. Barna, M. E. Wall, J. L. Lowrance and S. M. Gruner: *J. Appl. Cryst.* **28**, 196 (1995).
- 9) M. Suzuki, M. Yamamoto, T. Kumasaka, K. Sato, H. Toyokawa, I. F. Aries, P. A. Jerram, D. Gullick and T. Ueki: *J. Synchrotron Rad.* **6**, 6 (1999).
- 10) 雨宮慶幸: シンクロトロン放射光の基礎 (大柳宏之編, 丸善), 588 (1995).
- 11) K. Ito, N. Yagi and Y. Amemiya: to be submitted.
- 12) M. Stanton, W. C. Phillips, Y. Li and K. Kalata: *J. Appl. Cryst.* **25**, 549 (1992).
- 13) A. P. Hammersley, S. O. Svensson, A. Thompson, H. Graafsma, A. Kvick and J. P. Moy: *Nucl. Instrum. Methods A346*, 312 (1994).
- 14) K. Nishikawa, K. Fukuyama and T. Nishizawa: *Jpn. J. Appl. Phys.* **37**, 6486 (1998).
- 15) Gisela Engeln-Mullges and Frank Uhlig: "Numerical Algorithms with C", Springer, 309 (1996).
- 16) D. J. Thomas: *Proc. R. Soc. London Ser. A428*, 181 (1990).
- 17) J. P. Moy, A. P. Hammersley, S. O. Svensson, A. Thompson, K. Brown, L. Claustre, A. Gonzales and S. McSweeney: *J. Synchrotron Rad.* **3**, 1 (1996).
- 18) T. Fujisawa, Y. Inoko and N. Yagi: *J. Synchrotron Rad.* **6**, 1106 (1999).
- 19) K. Ito, T. Endo and Y. Amemiya: 7th International Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation in Berlin (SRI2000), (2000), Abstract POS1-205.