

生物結構小角度 X 光散射實驗設施

Biological small-angle X-ray scattering beamline

科學研究方向

提供一個尖端奈米級至微米級的非結晶生物結構研究工具。研究主題涵蓋 1-1000 奈米蛋白質的水溶液結構，包括蛋白質分子間、蛋白質-DNA 等複合體的結構，以及生物天然的功能性層級組織結構研究，如鳥羽、蝶翅、甲殼、蜂肌、矽藻及纖維素等。並提供相關結構中的微秒等級動態結構變化量測於動態結構機制研究一如生物 / 藥用分子如何穿透生物薄膜，胜肽-生物薄膜穿孔機制、生物巨分子纖維化行為、蛋白質結晶機制、微胞藥物攜帶及釋放等動態行為研究、以及蛋白質 / 染色體摺疊 - 解摺疊等序列層級結構變化。

主要實驗技術

- 提供線上樣品純化系統 (高效能液相層析儀, HPLC)、同步小角 / 廣角度 X 光散射、即時 UV 吸收、折射率、多角度光散射之整合型量測系統以解析水溶液中複雜組成與共存結構。
- 高光子通量 ($\sim 10^{14}$ 光子 / 秒) 及寬廣能量 (7-15 keV)，以達 10 微秒時間解析的結構動態研究。
- 微米級的光斑大小以進行微區同步小角 / 廣角度 X 光散射
- 超小角 / 廣角度 X 光散射，以推進解析結構尺度廣度以涵蓋原子尺度至微米範圍。
- 異常掠角及穿透小角 / 廣角度 X 光散射。

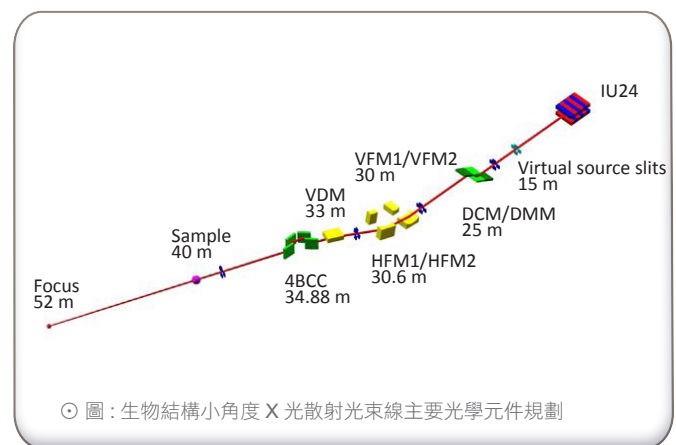
概要介紹

此 BioSAXS 光束線位於 TPS 13A，將安裝 4 米真空聚頻插件磁鐵 (IU-24)，週期長度 24 釐米，規劃產生 X 光能量範圍為 4-23 keV。光束線總長約 59 米長，包含前端區、光學區及末端的實驗站與用戶操作區。主要光束線光學系統包括：偶合雙晶體單光儀 / 雙多層單光儀，以提供高能量解析模式 ($\Delta E/E = 2 \times 10^{-4}$) 及高光通量 (5×10^{14} 光子 / 秒) 時間解析模式 ($\Delta E/E = 1 \times 10^{-2}$) 的選項。聚焦鏡系統包括：兩對水平-垂直聚焦鏡及一垂直偏轉鏡，兩對聚焦系統的聚焦比例設大約為 1:1 以減少光束發散程度，聚焦點則分別設定於實驗屏蔽屋的末端 (52 米) 及樣品位置 (40 米)。前者搭配下游安裝的兩對反向四次反射矽晶體準直系統 (4BCC)，可提供超小角 X 光散射模式以解析 1 奈米至 1 微米的特徵結構長度。後者搭配前端區的高熱載微米狹縫組可提供微米光點，以進行掃描式的微區 X 光散射。實驗站則包含四個主要系統：(1) 矽光器系統、(2) 光束線準直系統、(3) 樣品控制系統以及 (4) 由二個 X 光偵檢器 (Eiger X1M 及 Eiger X9M) 組成的 X 光散射偵測系統。

光束線設計

光源是整座光束線的起始點，此座光源經設計採用 IU24 超導磁鐵，是 TPS 儲存環中首次採用單一座長度達 4 m 的真空內聚頻磁鐵，具有 168 個週期，可以有效涵蓋到低能量

端 4 keV 的光子能量，為符合小角度散射實驗，限縮引出光源中心分佈的 40 μ rad 水平張角及 20 μ rad 垂直張角使用。生物結構小角度 X 光散射光束線核心元件是包含距離光源下游 25 米處的耦合單光儀 (Double Crystals Monochromator and Double Multilayers Monochromator, DCM/DMM) 加上 30 米處兩面垂直聚焦鏡 (Vertical Focusing Mirrors, VFMs)、30.6 米處兩面水平聚焦鏡 (Horizontal Focusing Mirrors, HFMs) 及 33 米處一面垂直方向平面偏轉鏡 (Vertical Deflection Mirror, VDM)，最後是 34.88 米處水平方向準直系統 (4-Bounce Crystal Collimator, 4BCC)，如圖排列所示。依照不同的實驗技術需求，可組合出四種不同的操作模式，共計整合八面晶體及五面光學鏡，是中心目前單一座整合最多項光學元件的光束線。而這四種操作模式分別介紹如下：



一、高光子通量模式 (High Flux Mode)

在每張數據影像中需累計有 1×10^5 散射光子數，加上典型的生物分子溶液其散射效率是 $\sim 5 \times 10^{-4}$ 條件下，為能執行微秒級 HPLC/SAXS 數據收集及時間解析實驗，因此在樣品位置需提供高達 $\sim 4 \times 10^{14}$ 光子 / 秒光通量。而滿足此一需求，除了前面提到加長磁鐵的長度之外，仍必須考量降低解析度採用更寬鬆的能帶篩選方式，因此增設一對 Mo/B₄C 雙多層膜晶體 (DMM, $\Delta E/E \sim 2 \times 10^{-3}$) 並比較一般常見的 Si(111) 雙晶體 (DCM, $\Delta E/E \sim 2 \times 10^{-4}$)，在此模式下，可再發揮光源原本的光通量 10~20 倍不等，爾後經過入射掠角皆為 3 mrad 的 VFM1 及 HFM1 聚焦鏡，再經過一樣是 3 mrad 入射之 VDM，將光束偏轉回平行於地面後，穿過位於 40 米處的樣品，聚焦在 52 米處的偵測器上。小角度 X 光散射光束線在設計上考量光束與狹縫組上的刀片碰撞造成的散射，亦是擷取數據的訊號干擾源之一，因此不採行加劇縮像比以及加上狹縫組切光的方式取得小發散角，而是朝向接近原始發散角，而此光束線使用 VFM1 及 HFM1 所得之垂直及水平方向縮像分別是 1.43 : 1 及 1.36 : 1。

二、超小角 / 廣角度 X 光散射模式 (USAXS Mode)

在此模式，目標在解析 1 微米大小間距的層狀微結構，換算等效最小可量測的散射波向量 q 值為 $6 \times 10^{-4} \text{ \AA}^{-1}$ ，如以 8 keV ($\lambda = 1.55 \text{ \AA}$) 為例，樣品受直射光撞擊後，伴隨層狀結構訊息所偏離出的散射峰僅有 150 μ rad 角度差異，經過 12

米長的行程距離抵達偵測器形成光斑，扣除直射光阻擋器投影寬度，實際在偵測器上有效分離間距僅有 800 微米。對應此需求，必須有效地將樣品資訊的散射峰尾端寬度縮減，避免訊號重疊。透過利用設置色散型晶體的繞射方式可以達到此一目的，因此在操作此模式時，耦合單光儀內由雙多層膜晶體切換到一對垂直方向雙晶體 Si(111)，加上 VFM1 與 HFM1 聚焦鏡及 VDM 偏轉鏡，最後再經由一組水平方向兩對反向的雙晶體 Si(311) 組成的準直系統 4BCC 的作用下，在 52 米處的聚焦點可以得到發散度 $32 \times 29 \mu\text{rad}^2$ (HxV, FW) 及光斑尺寸 $190 \times 36 \mu\text{m}^2$ (HxV, FWHM)。

三、異常掠角及穿透小角 / 廣角度 X 光散射 (ASAXS Mode)

在此模式能量區間涵蓋最廣，提供 4-23 keV 的範圍，光通量在 $\sim 10^{13}$ 光子 / 秒，考量在生物影像或藥物傳遞內，特別是生物系統內富含的原子，如鈣離子 (Ca K-edge= 4.038 keV) 都可以此實驗技術進行研究。在此光束線中所使用的雙晶體單光解析度是 $(\Delta E/E \sim 2 \times 10^{-4})$ ，足以將能量調整至該能量的吸收邊緣接近數 eV 處量測，除了鈣元素，尚有 Gd-silicate : Fe-ITC@mSiO₂ (Gd L_{III}-edge= 7.243 keV) 及 Au 奈米粒子 (K-edge= 11.918 keV) 等，皆是 ASXAS 技術應用在生物結構中的利器。而光束線光學元件配置則與高光通量模式相似，僅差別在於將雙多層膜晶體切換成具有更高能量解析度的雙晶體即可進行實驗。

四、微米聚焦同步小角 / 廣角度 X 光散射模式 (μ -beam Mode)

有鑑於需針對樣品 1-10 微米內進行逐區結構解析，配合前三種模式光學鏡已規劃的位置，同位置再增設一對垂直聚焦鏡 VFM2 及水平聚焦鏡 HFM2，並在前端區內僅有的小空間區域，距離光源 15.5 米處加裝一組高熱負載型的狹縫組，此狹縫組由精密機械小組研發，預計可限縮開口至 1-10 微米，以做為 VFM2 及 HFM2 的二次光源，再經過 VDM 後，聚焦至 40 米處的樣品上，預計可得到 $7 \times 5 \mu\text{m}^2$ 的聚焦尺寸，而傳遞到 52 米處偵測器上的聚焦尺寸是 $350 \times 50 \mu\text{m}^2$ (HxV, FWHM)。為了克服光學元件可能因熱負載擾動導致的光束漂移，尤其是單光儀方面所引起垂直方向移動，我們可以適當的利用下游設置之 Nano-BPM 回饋 VDM 垂直方向數微米的平移，以達到控制出光穩定的功能。此模式之設計，光通量與原始光源相比預計會產生 5~7 個數量級損失，但也受益於大幅降低微聚焦下的樣品輻射損害。在前端區 15.5 米處設置有兩對微米狹縫組，可將光束線光點降至 1 微米，在配合樣品前的微型 KB 聚焦鏡，預計可將光束線光點在樣品的位置降至 1 微米以下。

光束線的性能簡列如表，以常見的 8 keV 為計算基礎，光源的光斑尺寸是 $283 \times 7.5 \mu\text{m}^2$ (FWHM) 及發散角是 $45 \times 21 \mu\text{rad}^2$ (HxV, FWHM)。光束線除了平時的運轉模式外，同時也附加其它功能的設計，如在耦合單光儀上游一組螢光屏板鍍上鎳 (Ni) 薄膜，除可以阻擋來自偏轉磁鐵光源所引入的可見光干擾，以利讀取乾淨的 IU24 光斑外，同時也可透過收集該薄膜吸收邊緣之能譜特徵做為判別電子軌道是否運行經過 IU24 磁鐵間隙中心的依據。另外，在單光儀下游真空腔內置

入一組 10 片各式常用的能量校正箔片，可以涵蓋 K-edge 5 - 20 keV 的能量範圍，並以緊臨的狹縫組做為偵測器讀取電流，做為單光儀角度校正使用。在高階光子污染 (High-order Harmonic Contamination) 方面，我們在每一光學鏡面上劃分兩區，分別鍍上銠 (Rh) 及銠 / 鉑 (Rh/Pt)，在操作時可以依能量選取對應的鍍膜過濾高階光子。在即時監控光束穩定機制上，也在單光儀及 VDM 下游各設置一組 NanoBPM，一組可用來回饋位於 15.5 米處狹縫組光強度的穩定性，另一組則是監控 VDM 及 4BCC 的光束位置穩定性。最後，由於此光束線能量可以操作到 4 keV，為避免在此較低能量下的光強度損失，因此採用差異抽氣 (Differential Pumping) 而取代鑽石窗 (Diamond Window) 等設計。

表：四種操作模式性能參數

| Operational modes | High flux | USAXS | ASAXS | Microbeam |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Operation energy range (keV) | 7-15 | 4-15 | 4-23 | 7-15 |
| Horizontal demagnification | 1.36:1 | | | 1.61:1 |
| Vertical demagnification | 1.43:1 | | | 1.45:1 |
| Beam size (μm^2) | 190x52 | 190x36 | 190x36 | 7x5@40m |
| Divergence (μrad) | 60x29 | 32x29 | 60x29 | 70x3.8 |
| Energy resolution | 2×10^{-3} | | 2×10^{-4} | |
| Flux (phs/s) @ 500mA | $\sim 4 \times 10^{14}$ | $\sim 4 \times 10^{12}$ | $\sim 2 \times 10^{13}$ | $\sim 1 \times 10^{10}$ |

結語

本中心與中研院生化所蔡明道院士 / 何孟樵教授團隊共同規劃集資籌建的 TPS 13A 生物結構小角度 X 光散射設施，將提供全國用戶國際間最先進的實驗技術與設備，以進行靜態及動態的非晶型生物結構研究。本計畫預計將對國內生物結構研究領域產生巨大衝擊，以開創出國際尖端研究的實驗設施，提昇本中心在國際間的能見度。本設施並能拓展至生醫產業應用，特別是進行快速之藥物作用奈米結構特性研究以檢測新穎藥物在生理環境下其作用時的結構及機制。本實驗設施的執行與完成亦可作為國內生醫研究及生醫產業建立跨領域合作的橋樑設施，並期能吸引鄰近海外特別是南亞地區用戶之使用。

本文主要由實驗設施組劉定國提供文稿，張劍虹提供圖示。

計劃 / 建造主持人：國家同步輻射研究中心鄭有舜博士
(usjeng@nsrrc.org.tw)