



# 展 TENBO 望

## X線自由電子レーザー SACLA で 見る原子分子の世界



上田 潔

Ueda Kiyoshi

(東北大学多元物質科学研究所)

### 1 はじめに

自己増幅自発放射 (Self-Amplified Spontaneous Emission; SASE) 型の自由電子レーザー (FEL) がドイツ<sup>1)</sup>, 日本<sup>2)</sup>, アメリカ<sup>3)</sup> で建設され, 非常に強力かつパルス幅 (発光時間) の極めて短い極短波長レーザーパルスを用いた実験が可能となった。現在, その波長領域は X 線領域にまで到達している。2009 年の米国の X 線 FEL (XFEL) 施設 Linac Coherent Light Source (LCLS) の X 線レーザー発振<sup>3)</sup> に続いて, 2011 年 6 月に日本の XFEL 施設 SPring-8 Angstrom Compact free electron LAsEr (SACLA) で X 線レーザー発振が確認され<sup>4)</sup>, 2012 年 3 月から, 我が国でも SACLA において非常に強力なパルス X 線が利用できるようになった。XFEL を利用するとこれまで見ることができなかった超微細構造や超高速現象が見えるようになると期待されている。

タンパク質分子の構造は, これまでもっぱらシンクロトロン放射光を用いた X 線結晶構造解析によって決定されてきたが, 結晶化が困難なためにいまだに構造が決定されていないタンパク質分子も多い。SACLA の非常に強力な X 線パルスを用いると, 極めて小さな結晶からで

も X 線回折像を得ることができるので, これまで構造が分からなかったタンパク質分子の構造が決定できるようになると期待されている。

化学反応において超高速で起こる分子構造の変化もまた SACLA で見えるようになると期待されている。分子の構造と機能あるいは分子の性質を決定する電子状態は強い相関を持つ。反応中に超高速に起こる構造の変化と電子状態の変化の相関を理解できれば, 新機能デバイス材料設計や人工光合成の実現といった重要な課題に不可欠な情報を得ることができるようになる。多くの研究者が描いてきた化学反応研究の究極の目標がまさに SACLA で達成できると期待されている。

しかし, これらの目標を実現するために乗り越えなければならない障害もある。これらの目標を達成する可能性を秘めた SACLA の非常に強力な X 線パルスは, 試料に損傷を与える。SACLA は 1 秒間に数十発の X 線パルスを生成するので, 各々の X 線パルスが損傷のない新しい試料を照射するように工夫しなければならない。X 線構造解析における位相問題も解決しなければならない。これまで LCLS で試みられたタンパク質分子の結晶構造解析では, 分子置換法と呼ばれる方法を用いて, 既に分かっている

る構造を基に新規構造部分を決定している<sup>5-7)</sup>。構造が全く分からないタンパク質分子の新規構造を解析する場合、特定部位にラベルした重原子による異常散乱を用いて位相を決定する方法が広く用いられている。試料が SACLA の非常に強力な X 線パルスに照射される場合、そもそも重原子の異常散乱をどのように記述するのか、といった基本的な問題も解決しなければならない。

本稿では、SACLA での未知の構造決定という目標を実現するために、これらの問題を一つひとつ解決すべく進めている筆者らの SACLA での研究を 2 例紹介する。

## 2 シリアルフェムト秒 X 線結晶構造解析による異常シグナルの検出

本研究では、構造が既知のリゾチームタンパク質微結晶に SACLA の強力 X 線パルスを照射し、天然に含まれる硫黄原子による異常散乱信号の検出を試みた<sup>8)</sup>。用いた X 線の光子エネルギーは 7.7 keV である。一方、硫黄原子の吸収端は約 2.7 keV であり、硫黄原子が SACLA の 7.7 keV の X 線パルスを吸収する確率は 1% 未満である。このような条件下では、従来から知られている光学定数を用いて異常散乱信号を評価することができる。

SACLA の X 線パルスの幅は 10 フェムト秒 ( $10^{-14}$  秒) 程度と極めて短いため、X 線パルスによる微結晶の損傷の影響が現れる前に X 線回折像を得ることができる。ただし、各々の X 線パルスが損傷を受けていない新しい微結晶を照射するように次から次へと微結晶を供給することが必要である。粒径が 1  $\mu\text{m}$  程度の微結晶の高濃度懸濁液を、直径が 5  $\mu\text{m}$  程度の液体ジェットとして真空中に導入して、1  $\mu\text{m}$  程度に集光した X 線パルスを照射し、パルスごとに X 線回折像を記録した。次か

ら次に (シリアルに) 微結晶を導入し、XFEL のフェムト秒オーダーの極短 X 線パルスを用いて微結晶が損傷を受ける前に X 線回折像を記録する本手法をシリアルフェムト秒 X 線結晶構造解析法と呼ぶ<sup>6)</sup>。

2 日かけて約 600,000 枚の X 線回折像を撮ったが、このうち X 線パルスが微結晶に命中できたと思われるものが約 420,000 枚、このうち各回折斑点の積分強度の解析に使用できた X 線回折像が約 44,000 枚であった。これをコンピュータ上で重ね合わせて X 線回折像の回折斑点の積分強度を精密に見積もった結果、硫黄原子からの異常散乱信号を検出することに成功した。図 1 に異常散乱信号が検出された部位を示す。

この研究結果は、SACLA によるタンパク質微結晶のシリアルフェムト秒 X 線構造解析が可能であること、シリアルフェムト秒 X 線構造解析において X 線回折像の回折斑点の積分強度を評価して特定の原子からの異常散乱信号を評価できることを示したものである。このことによって、これまで構造が決定されていない新規タンパク質についても、SACLA を光源としたタンパク質微結晶のシリアルフェムト秒 X 線構造解析法に、従来から用いられている X 線構造解析の様々な手法を組み合わせることによって構造を決定する道筋が見ついたといえる。結晶化が困難なためにいまだに構造が決定され



図 1 硫黄原子の異常散乱による差異の現れた部位 (黄色の部分)  
参考文献 8) から International Union of Crystallography (<http://journals.iucr.org/>) の許可を得て転載

ていないタンパク質の中には、創薬ターゲットとなる膜タンパク質も多く含まれていることから、創薬分野への大きな貢献も期待される。

### 3 SACLA の強力 X 線照射を受けた重原子の特徴的な振舞い

先に紹介した研究では天然に含まれる硫黄原子の非常に弱い異常シグナルに注目した。重原子置換を行って重原子の内殻吸収端近傍の光子エネルギーを選択すると異常シグナルは増幅されるが、重原子による X 線吸収が無視できなくなる。このような条件下での X 線散乱を表すのに必要な原子データを取得することが急務となっている。本研究では、X 線散乱で重要な役割を果たす重原子の例として Ar 原子と Xe 原子を取り上げ、重原子が X 線光子を複数吸収して激しくイオン化を起す現象、いわゆる多光子多重イオン化過程の観測を試みた<sup>9,10</sup>。本実験では、Ar 原子又は Xe 原子を真空中に導入して、SACLA で得られる 1 μm 径程度のサイズに集光した X 線パルスを照射し、生成したイオンを、飛行時間型イオン質量分析法を用いて観測し、生成イオンの価数分布を求めた。

図 2 に 5.5 keV の集光 X 線パルスを照射して得られた Ar 原子イオンの価数分布を理論計算と比較して示す。最大で +10 価の Ar 原子イオンが観測されている。このような多価イオンはどのようにして生成するのであろうか？ Ar 原子の最も深い内殻 (K 殻) のイオン化<sup>しきい</sup>値 (3.2 keV) よりも高い光子エネルギーの X 線を照射すると K 殻の電子が光電子として放出され、引き続き段階的に起こるオージェ過程によって価数が上昇する。この段階的に起こるオージェ過程の典型的な例を図 3 に示した。K 殻イオン化の後に KLL オージェ過程が起こって 2 個の L 殻正孔ができると、正孔を埋める LMM オージェ過程が続いて 2 回

起こり、最外殻の M 殻に 4 個の正孔を持つ +4 価の Ar 原子イオン (Ar<sup>4+</sup>) が生成する<sup>11)</sup>。しかし、1 光子の X 線吸収によって K 殻正孔が 1 個できただけでは +10 価の Ar 原子イオン (Ar<sup>10+</sup>) を生成することはないのである<sup>11)</sup>。そこで、図 4 に Ar<sup>3+</sup>, Ar<sup>4+</sup>, Ar<sup>8+</sup> 及び Ar<sup>9+</sup> の収量を X 線強度 (ピークフルエンス) に対してプロットしてみた。1 光子吸収によって生成する Ar<sup>3+</sup> と Ar<sup>4+</sup> の収量はピークフルエンスに対して 1 次の依存性を示すのに対して、Ar<sup>8+</sup> と Ar<sup>9+</sup> の収量はピークフルエンスに対して 2 次の依存性を示すことが分かる。このことは Ar<sup>8+</sup> と Ar<sup>9+</sup> が 2 次の非線形過程、つまり X 線 2 光子吸収によって生成することを示唆している。SACLA の X 線強度 (ピークフルエンス) があまりに高いので、高々 10 フェムト秒の X 線パルスの照射時間の間に、図 3 に示したような段階的に起こるオージェ過程が 2 回も繰り返されたのである。このような X 線領域の 2 光子過程が観測されたことはそれ自体大変な驚き

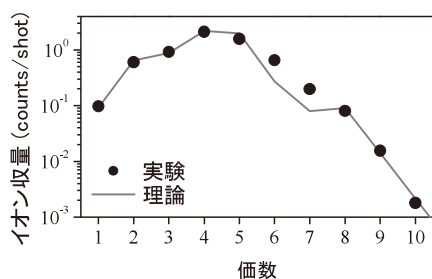


図 2 Ar 原子イオンの価数分布：実験 (●) と理論計算 (実線) の比較  
集光 X 線パルスの光子エネルギーは 5.5 keV。参考文献 9) の supplemental material から修正して掲載

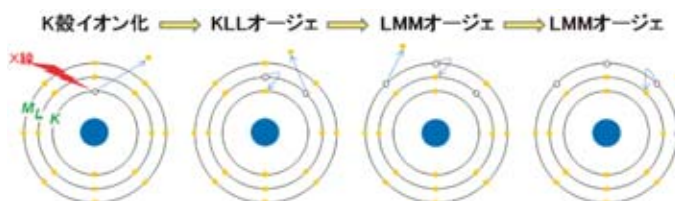


図 3 Ar 原子の K 殻イオン化に続いて起こる段階的オージェ過程

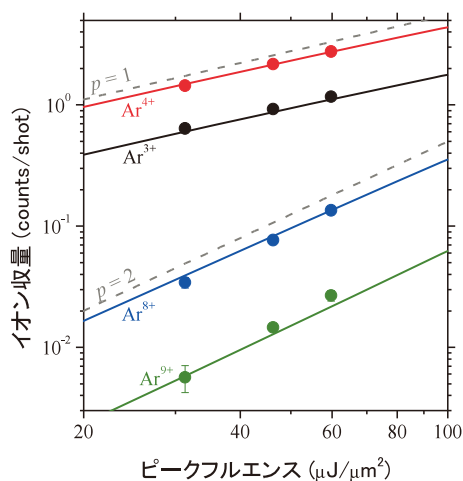


図4 Ar 原子イオン収量のフルエンス依存性

ピークフルエンスに対して1次, 2次の依存性を持つ線を目安として表示した。集光X線パルスの光子エネルギーは5.5 keV。参考文献9)のsupplemental materialから修正して掲載

であるが、筆者らは更に一歩進んで、この2光子過程の計測をX線の集光点での絶対強度(ピークフルエンスの絶対値)の計測に利用した。1光子過程で生成したAr<sup>3+</sup>とAr<sup>4+</sup>の収量と2光子過程で生成したAr<sup>8+</sup>とAr<sup>9+</sup>の収量の比から決定したXFELパルスのピークフルエンス絶対値は50 μJ/μm<sup>2</sup>であった<sup>9,10)</sup>。

Ar原子よりも更に重いXe原子の場合を見てみよう。図5に集光X線パルスを照射して得られたXe原子イオンの価数分布を理論計算と比較して示す。最大で+26価の多価イオンが観測されている。用いたX線パルスの光子エネルギーは5.5 keVである。一方、Xe原子のL殻の吸収端は5 keV近傍である。したがって、Xe原子に5.5 keVのX線パルスを照射すると、L殻イオン化が起こった後、段階的に起こるオーグメント過程により電子が次々と放出され、価数が上昇する。図6にXe<sup>8+</sup>、Xe<sup>14+</sup>、Xe<sup>18+</sup>及びXe<sup>24+</sup>の収量を、X線パルスのピークフルエンスに対してプロットした。それぞれのイオンは、異なるピークフルエンス依存性を示しており、それぞれ異なる数の光子吸収が関与するこ

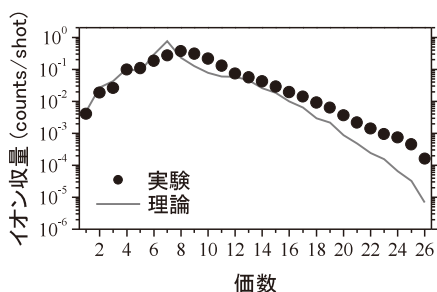


図5 Xe 原子イオンの価数分布: 実験 (●) と理論計算 (実線) の比較

集光X線パルスの光子エネルギーは5.5 keV。参考文献9)の図2を修正して掲載

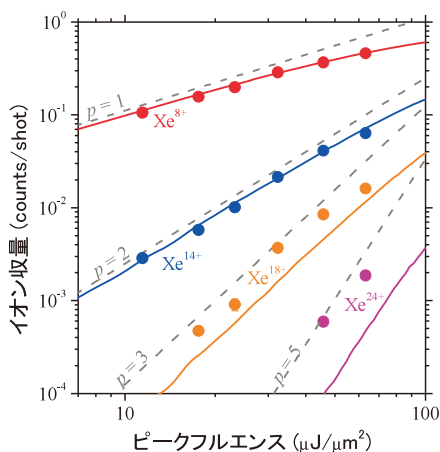


図6 Xe 原子イオン収量のフルエンス依存性

ピークフルエンスに対して1, 2, 3, 5次の依存性を持つ線を目安として表示した。集光X線パルスの光子エネルギーは5.5 keV。参考文献9)の図3を修正して掲載

とを示唆する。1光子吸収で生成するXe<sup>8+</sup>に注目すると、低ピークフルエンス領域では1次の依存性を示しているが、高ピークフルエンス側では傾きが小さくなっており、1光子イオン化が飽和してきていることが分かる。Xe<sup>14+</sup>とXe<sup>18+</sup>は1光子イオン化の飽和が起こるよりも低いピークフルエンスの領域でそれぞれ2次及び3次の依存性を示し、Xe<sup>14+</sup>とXe<sup>18+</sup>がそれぞれ2光子過程及び3光子過程で生成することが分かる。Xe<sup>24+</sup>は1光子イオン化の飽和が起こる領域で観測され、X線を4光子以上吸収し



て生成していることが分かる。図7に+24価のXe原子が生成する典型的な過程を理論計算に基づいて図示した。たかだか10フェムト秒程度のX線パルス照射時間にX線を吸収しては段階的にオージェ電子を放出する過程を5回も繰り返しているのである。

本研究から、SACLAの強力なX線パルスが重原子に照射されると、1光子吸収過程がほとんど飽和し、たかだか10フェムト秒程度のX線パルス照射時間に、X線を吸収してはオージェ電子を次から次に放出する過程を繰り返して、急激に重原子のイオン化が進行することが明らかになった。この結果は、SACLAの非常に強力なX線パルスを用いた構造解析では、このような重原子の動的挙動を考慮することが不可欠であることを示唆するものである。本研究では、強力X線パルスを照射された重原子の動的挙動を理論的に正確に描写することにも成功した。本研究のような重原子の動的挙動の解明もまた、SACLAを用いて超微細構造や超高速現象を解明するための重要なステップなのである。

### 【謝辞】

ここに紹介した研究は、東北大学多元物質科学研究所の筆者のグループ、京都大学大学院理学研究科 八尾誠教授のグループ、広島大学大学院理学研究科 和田真一助教、(独)理化学研究所放射光科学総合研究センターXFEL研究開発部門ビームライン研究開発グループ 矢橋牧名グループディレクター及び(公財)高輝度光科学研究センターXFEL研究推進室利用技術開発・整備チーム 登野健介チームリーダーのグループ、ドイツのMax-Planck研究所のIlme Schlichting教授のグループ等などからなる合同研究チームによる成果であり、合同研究チームの筆者を代表とする文部科学省X線自由電子

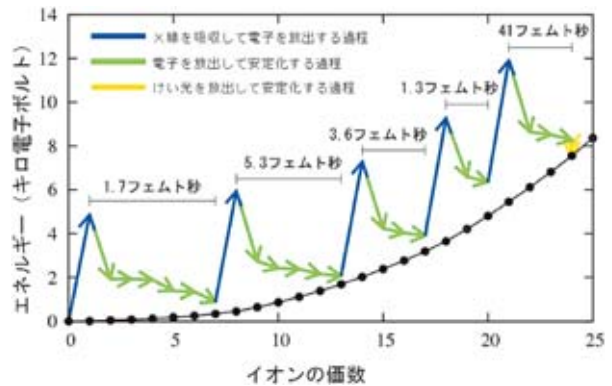


図7 X線吸収と多段階に起こるオージェ電子放出の繰返しによりXe原子の価数が上昇するX線高次非線形効果(参考文献9)の図4を修正して掲載

レーザー利用推進研究課題、(独)理化学研究所SACLA利用装置提案課題、文部科学省X線自由電子レーザー重点戦略研究課題の各事業の一環として行われました。参考文献8-10)の共著者の皆様に感謝いたします。

### 参考文献

- 1) Ackermann, W., *et al.*, *Nature Photon.*, **1**, 336-342 (2007)
- 2) Shintake, T., *et al.*, *Nature Photon.*, **2**, 555-559 (2008)
- 3) Emma, P., *et al.*, *Nature Photon.*, **4**, 641-647 (2010)
- 4) Ishikawa, T., *et al.*, *Nature Photon.*, **6**, 540-544 (2012)
- 5) Chapman, H.N., *et al.*, *Nature (London)*, **470**, 73-77 (2011)
- 6) Boutet, S., *et al.*, *Science*, **337**, 362-364 (2012)
- 7) Redecke, L., Nass, K., *et al.*, *Science*, **339**, 227-230 (2013)
- 8) Barends, T.R.M., Faucar, L., *et al.*, *Acta Cryst. D*, **9**, 838-842 (2013)
- 9) Fukuzawa, H., Son, S.-K., *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **110**, 173005 (2013)
- 10) Motomura, K., Fukuzawa, H., *et al.*, *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.*, **46**, 164024 (2013)
- 11) Ueda, K., *et al.*, *J. Phys. B: At. Mol. Opt. Phys.*, **24**, 605-613 (1991)