

X線透過像に基づく動態イメージング法の開発：材料に潜む動態物性の抽出



倉持 昌弘^{*1}
Kuramochi Masahiro



佐々木裕次^{*2}
Sasaki C. Yuji

1 はじめに：静的構造から動的情報へ

物質の機能は、静的な構造だけでなく、分子やナノ構造が時間と共にどのように揺らぎ、応答し、変化するかによって大きく左右される。特に高分子材料やソフトマテリアル、生体高分子では、階層的な構造変化や局所的な運動が、力学特性、熱応答性、機能発現に深く関与している。しかし、これらの微小な動態を非破壊かつ高時間分解能でとらえることは容易ではない。筆者らは、X線回折像に現れる微小な強度ゆらぎ、すなわち「明滅」現象に着目し、物質内部の微小な運動を高感度に検出するX線ブリッキング（明滅）法を開発してきた。本手法は、従来の静的なX線構造解析とは異なり、X線画像に含まれる時系列変化、すなわち動的情報を抽出することで、物質内部の隠れた運動を可視化する新しい計測法である。

2 回折X線ブリッキング法（Diffracted X-ray Blinking）

X線ブリッキング法は、当初、X線回折スポットの明滅を利用する回折X線ブリッキング法（Diffracted X-ray Blinking（DXB））として発展してきた¹⁾。DXBでは、結晶性試料や標識粒子の微小な回転・傾き運動を高感度に検出できる。本手法では、サブナノメートルスケールの運動をその場で計測することが可能であり、2018年に筆者らが考案して以降、主に生体高分子を対象として発展してきた。こ

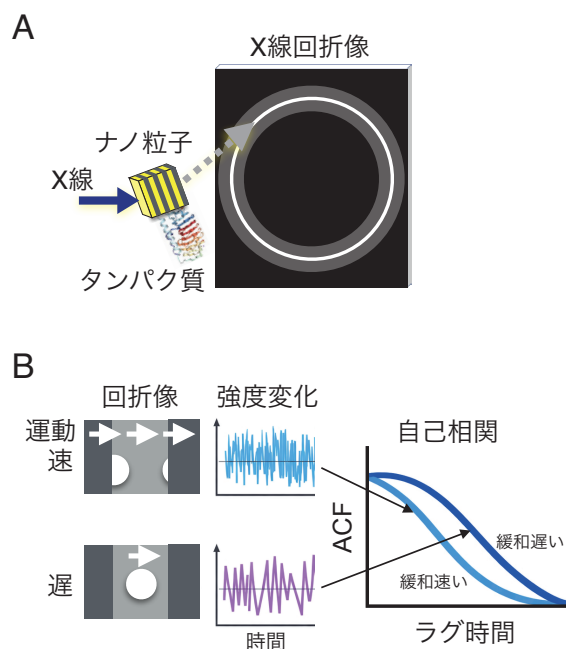


図1 Diffracted X-ray Blinking（DXB）の概要

(A) タンパク質分子にナノ粒子を化学標識し、単色X線を照射することで、得られた回折強度の時間変化から分子運動を評価できる。(B) 分子運動が速いほど、回折点は速く移動するので強度変化は高周波になる。運動が遅い場合は、強度変化は低周波になるので、自己相関解析すると速い運動では減衰（緩和）が速く、遅い運動では減衰も遅くなる

れまでに、タンパク質分子の動態計測¹⁾に加え、生細胞膜上の分子運動²⁾、更には線虫等のモデル動物体内における分子動態計測³⁾にも適用されている。近年では、対象は無機材料にも広がっている。例えば、ハロゲン化銀薄膜における機能発現時の多結晶ダイナミクスや、X線照射によって生じる金属銀の

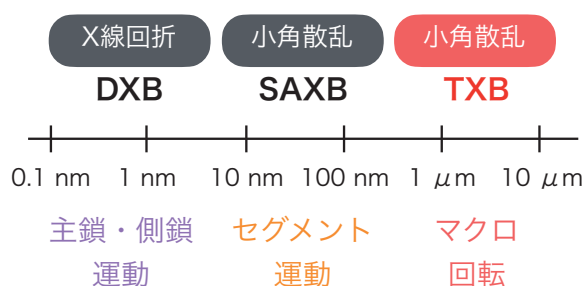


図2 X線動態計測法の階層的展開

X線回折像を利用するDXBは主鎖・側鎖レベルの微小運動を、小角散乱像を利用するSAXBはセグメント運動、X線透過像を利用するTXBはよりマクロな回転・揺らぎを反映する。DXB、SAXB、TXBを相補的に用いることで、サブナノメートルからマイクロメートルスケールにわたる多階層の構造動態を評価できる

格子構造変化が捉えられている⁴⁾。その後も、サリチリデンアミン結晶の光変形、キラル結晶・ラセミ結晶の熱応答、ゴム材の界面物性⁵⁻⁷⁾等、多様な系への展開が進んでいる。

DXBの原理は非常にシンプルである(図1A)。対象とするタンパク質分子に結晶性ナノ粒子を標識し、そこに単色X線を照射すると、結晶の向きに応じてX線回折像が得られる。粒子がわずかに回転・傾斜すると、回折点の位置や明るさ、すなわち回折強度も時間と共に変化する。したがって、回折点の「明滅(ブリンキング)」を解析することで、粒子の回転・傾斜運動を読み取ることができる。具体的には、速く動く分子や粒子では回折点の明滅も速くなり、逆にゆっくり動く粒子では明滅も緩やかになる。この回折強度の時間変化に対して自己相関関数(autocorrelation function (ACF))解析を行うことで、明滅の速さを定量化できる。ACFの減衰、すなわち緩和が速いほど運動性が高く、減衰が遅いほど運動性が低いことを意味する(図1B)。実際の解析では、各画素で得られる減衰定数の分布を比較することで、試料間の分子動態の違いを評価する。

3 回折像から小角散乱・透過像への展開

近年では、DXB法の概念を回折像に限定せず、X線散乱像における散乱強度の揺らぎにも物質固有の運動成分が反映されると考え、その検証を進めてきた。実際に、タイヤゴムを対象としてX線自由電子レーザーを用いた高速時分割測定を行ったところ、カーボン微粒子とポリブタジエン高分子の相互作用に由

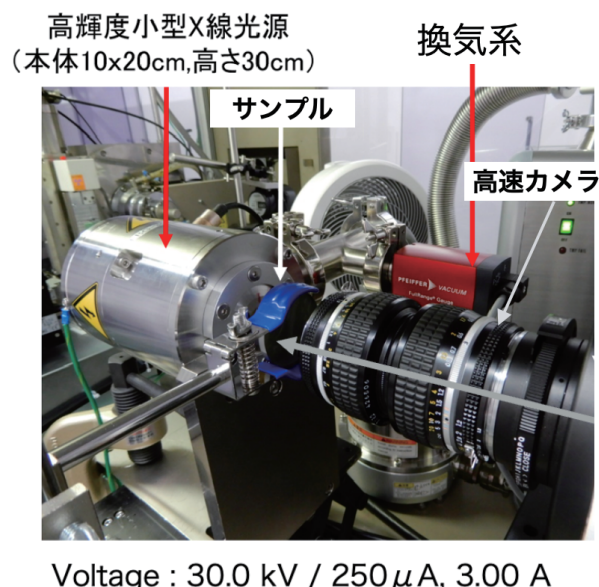


図3 透過X線明滅法(TXB)測定装置の概要

独自開発した小型X線光源を用い、試料を透過したX線強度の時間変化を高速カメラで記録する。試料はX線光源と検出系の間に配置、シンチレータでX線を可視光に変換した後、高速カメラにより時系列画像として取得した。装置は小型でありながら、マイクロ秒以下の時間分解能で透過強度のゆらぎを計測できる

来する動的挙動をとらえることに成功し、散乱強度の揺らぎにも運動情報が含まれることを実証した⁷⁾。この知見を基盤として、小角散乱領域における時分割動態計測法であるSmall-Angle X-ray Blinking (SAXB)法を考案し、ナノメートルスケールの構造動態を評価可能な新たな計測法へと展開してきた⁸⁾。これらの成果は、X線透過像における透過強度の揺らぎにも、試料内部の運動成分が含まれる可能性を示唆している。X線回折は主に原子スケールの構造変化、小角散乱(SAXS)領域はナノスケールの構造動態を反映する。更に、X線透過像では、ナノメートルからマイクロメートルスケールにわたる、より大きな階層の動態を捉えられる(図2)。そこで、X線透過強度の揺らぎを利用した新たな動態計測法として、透過X線明滅(Transmitted X-ray Blinking (TXB))法を考案した⁹⁾。

4 透過X線明滅法(Transmitted X-ray Blinking (TXB))

TXB測定では、独自開発した実験室X線装置を用いた(図3)。本装置では、X線管球から発生したX線を試料に照射、試料を透過したX線をシンチレータで可視光に変換した後、その光強度の時間変

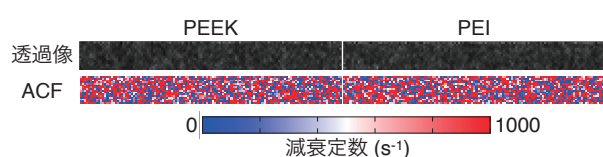


図4 PEEKおよびPEIの透過像とACF減衰定数マップ

通常のX線透過像では、PEEKとPEIの間に明瞭なコントラストは認められない。各画素の透過強度ゆらぎから算出したACF減衰定数分布は、統計的に有意な差が認められるものの、減衰定数を二次元マッピングしただけでは、両者の分布に重なりがあり、明瞭に識別することは難しい。

化を高速カメラで記録する。通常のX線透過像が「静止画」として試料内部の吸収コントラストをとらえるのに対し、TXBでは透過強度のごく短時間のゆらぎを「動画」として取得する点に特徴がある。また、本装置は卓上型であり、コンパクトで持ち運びも可能であることから、様々な試料に適用しやすい汎用性の高いシステムとなっている。

ここでは、エンジニアリングプラスチックであるポリエーテルエーテルケトン(PEEK)とポリエーテルイミド(PEI)をモデル試料として用いた。これらの試料は、外観や通常の透過像では識別が難しい一方、結晶性、分子構造、フィラーの有無等が異なる材料である。そこで、TXBによってX線透過像の強度ゆらぎを時分割取得し、材料固有の動的特徴を抽出できるか検証した。

5 透過像とACFマップによる動態評価

PEEKとPEIの通常の透過像を比較したところ、両者の間に明瞭なコントラストは認められなかった(図4)。これは、測定条件下では両材料のX線吸収差が小さく、静的な透過強度だけでは材料の違いを十分に可視化できないことを示している。一方、TXBでは、各画素レベルの透過強度の時間変化を解析することで、静的な透過像には現れない動的情報を取り出すことができる。各画素の強度ゆらぎに対して自己相関関数(ACF)解析を行ったところ、PEEKとPEIではACF減衰定数の分布に違いが認められた。これは、X線透過像の強度ゆらぎ内に、材料固有の運動情報が含まれていることを示唆している。ただし、ACF減衰定数をそのまま二次元マップとして表示した場合、PEEKとPEIを視覚的に明瞭に識別することは難しい(図4)。なぜなら、両者の減衰定数分布には重なる領域があるため、単一の緩和時間(減

衰定数)という指標だけでは、二次元画像化した場合、材料間の違いを十分に表現できない。

6 データ駆動アプローチに基づく動態物性の抽出

ACF減衰定数だけでは、二次元画像化した際にPEEKとPEIを明瞭に区別することはできなかった。そこで、ACF減衰定数という単一の指標ではなく、ACFプロファイル全体に含まれる多次元的な特徴に着目した。具体的には、各画素から得られたACF曲線に対して主成分分析(Principal Component Analysis(PCA))を行い、ACFプロファイルに含まれる主要な特徴を少数の成分に縮約した(図5A)。更に、得られた特徴量を用いて線形判別分析(Linear Discriminant Analysis(LDA))を行い、PEEKとPEIを最もよく識別できる動的特徴を探索した。この解析により、膨大な数のACFプロファイルに潜在する情報を整理し、通常の透過像や単一のACF減衰定数では見えなかった材料固有の動的差異を抽出することが可能となった(図5B)。

その結果、通常の透過像や単純なACF減衰定数マップでは識別が困難であったPEEKとPEIを、動的特徴に基づいて90%以上の精度で分類できることが分かった(図5C)。特に、分類に強く寄与した主成分には、単純な緩和速度の違いだけでなく、数百kHz程度の高周波成分が含まれていた。このことは、PEEKとPEIの識別に重要な情報が、平均的な透過強度や単一の緩和時間ではなく、透過強度のゆらぎの中に含まれる複雑な動的モードに存在することを示している。以上の結果から、TXBは、従来のX線透過像では見分けにくい材料の違いを、透過強度の時間ゆらぎ、すなわち「動態」に基づいて識別する新しい計測法であることが示された。

7 TXBの応用展開

TXBの大きな特徴は、特別な標識を必要とせず、X線透過像に含まれる強度ゆらぎから試料内部の動的情報を取得できる点にある。この性質は、材料科学だけでなく、生体試料への応用にも有用であると考えられる。例えば、神経変性疾患にかかわるタンパク質凝集体や、がん組織における微小環境では、通常の構造像だけでは捉えにくい特異的な運動状態

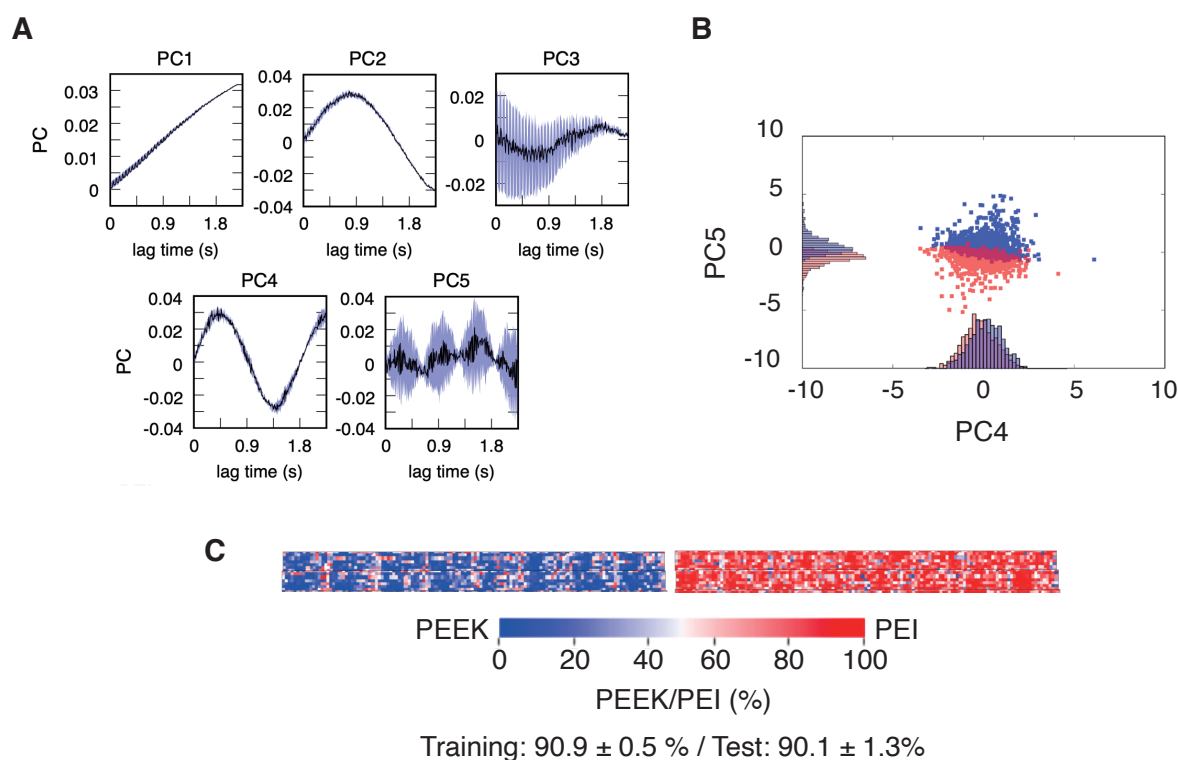


図5 データ駆動アプローチによる PEEK および PEI の動的識別

(A) ACF プロファイルに対する主成分分析 (PCA) の結果。(B) PC4 および PC5 を用いた特徴空間における PEEK と PEI の分布。両材料は動的特徴に基づいて異なる分布を示す。(C) PCA で抽出した特徴量を線形判別分析 (LDA) することで得られた PEEK/PEI 分類マップ。通常の透過像や減衰定数マップでは識別困難であった PEEK と PEI を 90% 以上の精度で分類できた

が存在する可能性がある。更に、TXB は透過像を基盤とするため、試料を回転させながら各投影方向で時間ゆらぎを取得することで、原理的には CT 化も可能である。将来的には、強度ゆらぎや ACF 減衰定数等の動態パラメータを三次元的に再構成し、神経凝集、細胞内構造、組織中の異常領域等を、動きの違いに基づいて可視化する新しい X 線動態イメージング法へと発展することが期待される。

参考文献

- 1) H. Sekiguchi *et al.*, *Sci. Rep.*, **8**, 17090 (2018)
- 2) K. Mio *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **529**, 2, 306-313 (2020)

- 3) M. Kuramochi *et al.*, *Biochem. Biophys. Reports*, **29**, 101224 (2022)
- 4) M. Kuramochi *et al.*, *Sci. Rep.*, **11**, 4097 (2021)
- 5) T. Taniguchi *et al.*, *Commun. Chem.*, **5**, 4 (2022)
- 6) K. Ishizaki *et al.*, *Crys. Grow. & Design*, **23**, 7, 5330-5337 (2023)
- 7) M. Kuramochi *et al.*, *Appl. Phys. Lett.*, **123**, 101601 (2023)
- 8) T. Arai *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 23, 16640 (2023)
- 9) M. Kuramochi *et al.*, *Optics Express*, **33**, 24, 51657-51670 (2025)

(*¹ 茨城大学学術研究院応用理工学野, *² 東京大学大学院新領域創成科学研究科)