## 無機化学1 第15回 X線構造解析に関連するトピックス

#### 本日のポイント

# 構造相転移と回折像の変化 構造相転移とともに今までスポットのなかった位置に回折が発生 →構造がどのように変わったのか、に関する情報が得られる 例えば:倍周期化 → 中間位置に回折出現

 ・放射光を用いたX線構造解析
 実験室系とは異なる方法でX線を発生させる
 強力な光源により、通常ではできない測定が可能
 cf. 微結晶の解析、可逆反応系のポンププローブ法 etc.

•新世代光源XFEL

極短パルス, 超高輝度, コヒーレンス光源 不可逆反応系のポンププローブ測定なども可能に

### 1. 構造転移とX線構造解析

結晶からのX線回折は、単位格子のサイズや対称性に影響される. 例えば単純なBraggの式をもとに考えると、格子間隔 d に対し

 $2d\sin\theta = n\lambda$ 

となる角度方向に回折する. 式からわかるように、構造転移などに より格子の周期が変化すると、回折 が現れる角度が変わってくる.

例えば,結晶中で2分子が近づいて 二量化して,周期が倍になる場合を 考えてみよう.





低温になると単位格子のサイズが倍になる  $\rightarrow 2d\sin\theta = n\lambda$ のdの値が倍になるので,  $\sin\theta$ の値が半分の ところにも回折スポットが現れるようになる.

#### 1. ある結晶のX線の例

#### ※この結晶は、100 Kの少し上あたりで絶縁体に転位する導電性物質



150 K



16 K

- ・絶縁化する低温側で、スポットが増える → 何倍かの周期が立っている (※スポットの位置からは、2つの軸が3倍周期に変化と推測)
- ・スポットの出る温度が絶縁化とほぼ一致
   → 絶縁化のメカニズムには、3倍周期化が関係?

#### 2. 極限状態にある物質のX線回折を調べることで, 直接調べることのできない物質についての情報も得られる



例: 超高圧下でのX線測定から, 地球内部の物質を推測する

地球の内部:複数の層からなり,異なる特性の物質で構成されている

#### 地球の内部構造はどうやって調べる? 深く掘る → 現実的ではない 最も深い掘削坑 : 深さ約12 km程度 それに対し, 地球の半径 : 約6400 km

ではどうする? → 地震波の伝わり方で, 間接的に調べる



連続的に密度が変わる → 地震波が曲がる 物質の変化(境界の上下で組成が違う, 等) → 地震波の大きな曲がりや反射

・各地への地震波の到達時間から地球内部 に関する情報が得られる。

https://ja.wikipedia.org/wiki/地震波 より

推定されている内部の構造

地震波からわかること:

核のあたりに低速度域&その部分は横波を通さない → 液状の外核 深度410 km以下と660 km以下で速度が急増 → 鉱物の硬さが急増 マントルは, 深さ(=温度や圧力の変化)で異なる鉱物に構造転移?



https://ja.wikipedia.org/wiki/マントルより

しかし地震波からわかるのは密度・ 粘性・硬さなどの情報だけで、実際に どんな物質なのかは別な手法で推測 する必要がある.

# さまざまな分野の知見を結集し、地球の内部構造に迫る ・隕石(=古代の惑星と同一起源)の組成 → 地球の組成の推測 ・浅い位置の岩石の調査 → 不足する元素は深い位置に?

- ・
  浅い
  迎直の
  石石の
  調査
  フ
  イ
  足
  9
  る
  兀
  糸
  い
  い
  迎直
  に
  く
  ・
  地球の
  時点の
  「
  ふらつき
  」の
  精密
  測定

  →
  慣性
  モーメントの
  決定
- 「地球の時点の」からっさ」の桶留測定 ラ 頃住モーメントの決定 重いものが外側にあると慣性モーメント大. 中心が重ければ小 実測値は. 均一組成よりも小さい → 地球の中心付近は重い
- 隕石の組成と合わせると、おそらく核の主成分はFe(とNiやS) ・深部から上昇してきた岩石を調査 → ある程度の深さの組成がわかる ・さらに深いところの岩石も、一部捕獲された状態で上がってくる

→ ある程度の深部までの組成がわかる

組成に関してはある程度推定できるが、ではその組成の鉱物がどんな 構造になっているのか(→硬さや粘性などにも影響)は、実物が見られ ないとなかなかわからない(シミュレーションもあるにはあるが……) 高温・高圧下でのX線構造解析

深部のマントルなどに関しても、組成はそこそこ予測されている. なら、その組成の岩石を高温・高圧にすると、マントルなどの鉱物が再現 できるのでは?

→レーザー加熱式ダイヤモンドアンビルセル

ダイヤモンドアンビルセル(DAC) ・対向する2つのダイヤモンドに挟まれた部分を超高圧に. ・サンプルスペースは非常に狭いが,超高圧を実現可能. ・ダイヤモンドが透明なので,光を透過させ分光も可能 →レーザーを導入し,試料の一部を高温に加熱可能 (超高圧・高温の地球内部に近い条件を発生できる)



#### 模式図

#### Electromagnetic Radiation







東大物性研 https://www.issp.u-tokyo.ac.jp/maincontents/other/exhivition2009/newmaterial.html

https://ja.wikipedia.org/wiki/ダイヤモンドアンビルセル

#### ※ダイヤモンドの径は3 mm程度 先端の径は0.1~1 mm程度 先端が細いほうが超高圧が可能になるが,割れやすい

高温・高圧下でのX線構造解析による新発見の例:ポストペロブスカイト

下部マントルの最深部(核とマントルの境界の直上)に, 地震波の速度が 大幅に変化する領域が見つかっていた(D"層).

下部マントル自体はペロブスカイトと呼ばれる非常に密度の高い構造と なっているため,深くなる=圧力が上がったからと言って,もっと密度が 高い別な構造に変化することがあり得るのか?という点が議論の的に.

むしろ、マントル(主にMgSiO<sub>3</sub>)と核(Feに、多少のNiやS)との境目なの だから、それらの化学的な混合により何か違う物質になっている?など 議論があったが、観測された地震波をうまく説明できる仮説は無かった.

2004年, レーザー加熱DACを用いた実験で, 超高圧下ではペロブスカイト がさらに別な相に構造相転移することが発見される.

#### Post-Perovskite Phase Transition in MgSiO<sub>3</sub>

#### Motohiko Murakami,<sup>1\*</sup> Kei Hirose,<sup>1\*</sup> Katsuyuki Kawamura,<sup>1</sup> Nagayoshi Sata,<sup>2</sup> Yasuo Ohishi<sup>3</sup>

In situ x-ray diffraction measurements of  $MgSiO_3$  were performed at high pressure and temperature similar to the conditions at Earth's core-mantle boundary. Results demonstrate that  $MgSiO_3$  perovskite transforms to a new high-pressure form with stacked  $SiO_6$ -octahedral sheet structure above 125 gigapascals and 2500 kelvin (2700-kilometer depth near the base of the mantle) with an increase in density of 1.0 to 1.2%. The origin of the D" seismic discontinuity may be attributed to this post-perovskite phase transition. The new phase may have large elastic anisotropy and develop preferred orientation with platy crystal shape in the shear flow that can cause strong seismic anisotropy below the D" discontinuity.

MgSiO<sub>3</sub> perovskite is believed to be a principal mineral, at least in the upper part of the lower mantle, but its stability and possible phase transition at greater depths remain uncertain. Because seismic observations have shown unexplained features in the lowermost mantle (1-4), solid-solid phase transitions diffusion caused by a large temperature gradient in these earlier studies (14). Here we report in situ x-ray observation of pure MgSiO<sub>3</sub> composition at high pressure and temperature up to 134 GPa and 2600 K corresponding to the conditions at the core-mantle boundary region.

#### Science, 304, 855-858 (2004)



Science, 304, 855-858 (2004)



Hirose et al., *Science* **358**, 734–738 (2017)

Mg

### 2. 放射光とX線構造解析

X線構造解析装置は、さまざまな物質の結晶構造を解明してきた非常に 強力な装置ではあるのだが、限界もある.

その一つがX線の出力で、もしもっと強いX線源が存在すれば、これまで 以上にさまざまな測定が可能になるだろう.

例えば通常の実験室に置けるサイズの単結晶X線構造解析装置では, 結晶のサイズとして大まかに0.1 mm角程度の大きさが必要になる.

しかし、すべての物質がこれだけ「大きな」結晶を得られるとは限らず、 特に生物の作るタンパク質などは得られる量も少なく、結晶化もしにくい ことから、もっと小さい単結晶しか得られないこともしばしばである.

そこで、より小さい結晶でも構造解析が可能な、非常にパワフルなX線源が開発され、使用されている.

#### シンクロトロンによる放射光の発生

電子(などの電荷をもったもの)が加速運動すると、電磁波を放射する. 特に、高速で動いている電子が大きな加速度(速度変化)を受けると、 非常に強い光を放射することが知られている.

例えば円運動は加速運動なので(\*), リング内で電子を光速に近い速度 で周回させると、その接線方向に非常に強烈な光が放射される. 現在ではこの原理を用い、直線加速器(LINAC、リニアック or ライナック) で高速近くにまで加速した電子をシンクロトロンに蓄積し、そこから出る 放射光がさまざまな実験に使用されている.

\*等速直線運動以外の運動はすべて加速運動なので、「速度が変わる」 とか「動く方向が変わる」というのはすべて「加速」で、光が放射される

#### シンクロトロン放射光施設の例:高エネ研(KEK) Photon Factory(PF)



#### https://www2.kek.jp/imss/pf/about/sr/ より

#### シンクロトロン放射光施設の例: Spring-8



Google Map より

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造



http://www.spring8.or.jp/ja/about\_us/whats\_sp8/whats\_sr/generation\_sr/ より

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:直線加速器(LINAC)



https://www2.kek.jp/accl/legacy/topics/topics100830.html より

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:直線加速器(LINAC)

電子を加速する方法:電磁波(マイクロ波など)の電場成分を使う →光=電場と磁場の振動.

加速空洞に高周波を入射し共鳴させると、加速空洞内に周期的に向きの変わる電場が生じる。この電場が、「ちょうど電子が来た時に、電子を加速する向き」になるようにタイミングを合わせると、侵入してきた電子が高周波(光)の作る電場で加速されることになる。



https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/2103/2103.16500.pdf

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:直線加速器(LINAC)



高エネ研の解説動画:電子・陽電子入射器 LINAC https://www.youtube.com/watch?v=6Xyu1whp56Y

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:蓄積リング

ほぼ光速で飛んでいる電子を磁石で曲げ、リング内を周回させる. ※電子の流れ(=電流)に磁場を加えると、ローレンツカで曲がる.

原子や分子に衝突すると電子が失われるため, 蓄積リング内はそこそこ 高い真空度にしておく必要がある. また, 電子の集団は互いの反発力で だんだんバラけて行ったり, 周回軌道がリングの中心から徐々にズレて きたりするので, 磁場を微調整したりして補正しながら周回を続けられる ようにしている. (それでもどうしても電子が少しずつ失われるので, 時々再入射する)

電子が曲げられて放射光を出すと、その分だけエネルギーを失って遅くなる.このため、蓄積リングにも加速空洞が設置され、電子が周回するごとにマイクロ波で再加速されるようになっている.

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:蓄積リング

#### Spring-8の蓄積リング(周長1436 m)



#### Photon Factoryの蓄積リング(周長187 m)



左:http://www.spring8.or.jp/en/about\_us/whats\_sp8/facilities/accelerators/synchrotron/ より 右:S. Asaoka et al., https://accelconf.web.cern.ch/a01/PDF/TUCM02.pdf より シンクロトロン放射光施設の基本構造:偏向磁石とアンジュレーター

シンクロトロンでは、電子が曲げられるところで光が発生する.

ただ、この場合に発生する光は非常に幅の広い波長(=いろいろな波長の光の混合物)となっている.

(これは、好きな波長の光を選び出して使える、という利点でもあるが、 同時にある個々の波長の光の強さは弱くなる、という欠点でもある)

この欠点を解決すべく、アンジュレーターなどの挿入光源が開発された. アンジュレーターは電子の通り道を上下から磁石で挟み込んだもので、 N極とS極が交互に並んでいる。そこに電子が飛び込むと、磁場によって 交互に右・左・右……と曲げられ蛇行する。電子が曲がるたびに光を放出 し、その光が前方で重なり合うことで、狭い波長範囲&空間的にあまり 広がらない光(=非常に強烈に明るい光)を放出できる。

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:偏向磁石とアンジュレーター



http://www.spring8.or.jp/en/news\_publications/publications/scientific\_results/about\_sp8/ より

偏向磁石による放射光:実験室系のX線源の100万倍程度の輝度 アンジュレーターによる放射光:実験室系のX線源の100億倍程度の輝度

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:ビームライン

シンクロトロン放射光施設では、偏向磁石や挿入光源が設置されている すべての場所で放射光が発生する.このため、それぞれの場所からX線 (などの光)を引き出し、測定に利用することが可能である. 例えばSpring-8では約60本ほどのビームラインが設置されており、場所 ごとに異なる機関が所有していたり、異なる測定装置が設置されており さまざまな測定に使用されている.

※各ビームラインごとに最適な波長やエネルギー, ビームラインの長さ などが異なっており, 適した測定が異なってくる. すべてが結晶構造解析に使われているわけではなく, さまざまな分析

に利用されている.

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:ビームライン



http://www.spring8.or.jp/ja/about\_us/whats\_sp8/facilities/bl/map/ より

#### シンクロトロン放射光施設の基本構造:ビームライン



https://www2.kek.jp/imss/library/ より, Photon Factoryのビームラインの一部

#### 放射光を使うとどんな測定が可能になるのか?

とにかくものすごく明るいX線源 → 短時間や, 超微結晶でも測定可能に ※特に, タンパク質などの結晶の構造解析でも数多くの成果を生む (大きな結晶が得られにくく, さらに水などを多く含んでいて非周期的な 成分が入っているせいで回折ピークも弱い, などがある)



DNAの修復に重要な役割を果たすRAD52と単鎖DNA複合体の構造 M. Saotome et al., *iScience*, **3**, 50-62 (2018) より ポンプ-プローブ測定による,結晶中での可逆反応の構造変化追跡

化学の「夢」のひとつ:化学反応のあいだ原子・分子がどのように動いて 行くのかを実際に「見る」.

どうやって実現するか? → その一つの方法がポンプ・プローブ法

ポンプ・プローブ法:

特定の波長の光(等)で開始される反応に対し,

光励起で反応開始 → ほんのわずかに遅れた光で観測

とすることで、反応開始からちょっとだけ経過した状態を測定する.

これを, 観測の遅延時間を変えながら何度も行うことで, 反応の様子を コマ送りで観測することができる(分光実験が多い).

#### ポンプ-プローブ測定による,結晶中での可逆反応の構造変化追跡



分光ではこんな感じで測定を行う

- ポンプ光が試料に当たって反応開始 ↓ 1×10<sup>-9</sup>秒遅れでプローブ光を当てる
  - =反応開始から1×10<sup>-9</sup>秒後の情報 が得られる
  - $\checkmark$
- ポンプ光を再照射(気体や液体の試料 なら,未反応な別の部分に当たる)

Ŷ
 2×10<sup>-9</sup>秒遅れでプローブ光を当てる
 =反応開始から2×10<sup>-9</sup>秒後の情報
 が得られる (以下繰り返し)

ポンプ-プローブ測定による,結晶中での可逆反応の構造変化追跡

 ポンプ-プローブ測定では、プローブ光の遅延時間を変えながら何度も 測定を行う必要がある → 多数回の測定のたびに、初期状態(未反応 の状態)に戻っている必要がある。

: 結晶でやるなら, 迅速に元に戻る可逆反応が適している

・プローブ光の照射時間は非常に短い(例えば、1ナノ秒後の構造を知りたいのに秒単位の長さのプローブ光を照射してしまうと、秒単位で平均した構造しか観測できない). つまり見たい時間スケールより十分短い短パルスで測定を行う必要がある.

∴X線構造解析でやるなら相当強烈に強い光源が必要 → 放射光
 ※実際の測定では、同じ遅延時間で何度も測定を重ねて集計するので、多少条件は緩くなる.

ポンプ-プローブ測定による,結晶中での可逆反応の構造変化追跡 実際の研究の例:人工光合成系分子の光励起電荷移動と構造変化



https://www.kek.jp/ja/NewsRoom/Release/20120301140000/



*J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 4569–4572 (2012)

#### 3. 新世代光源XFEL

※XFEL = X-ray Free Electron Laser, X線自由電子レーザー

シンクロトロン放射光は非常に強力な研究手段として存分に利用されて いるが,研究の進歩,特に結晶化が難しく光照射により壊れやすい生体 分子(タンパク質等)の構造解析が一層重要性を増していることに伴い, 一段と強力で優れた光源の必要性が増してきている.

そんな「次世代の光源」として開発され実用化され始めているのが、X線 自由電子レーザー(X-ray Free Electron Laser, XFEL)である.

XFELは、長い直線状のアンジュレーターを電子(の集団)が駆け抜ける際に、後方の電子が出した放射光が前方の電子の位置を揃えることで 位相の揃った強烈なパルス(放射光)を発することができる. 例えばSpring-8の敷地内に建設されたXFEL施設SACLAは、ピーク輝度で Spring-8の10<sup>9</sup>倍、パルス幅はSpring-8の1/1000以下の10<sup>-14</sup>秒以下と、 非常に強烈かつ短いパルス光を発生できる.

#### Spring-8に併設されたSACLA



理研 SACLAイメージギャラリー http://xfel.riken.jp/gallery/index.html より

#### 大まかな原理



理研 未来を拓く夢の光XFEL - X線自由電子レーザーhttps://www.youtube.com/watch?v=NeWKc3yenyw 何ができるのか?

非常に高強度の極短パルス(10 fs=10<sup>-15</sup>秒レベル)

1. ある「瞬間」を切り出せる

→非常に速い反応の途中の状態を解析可能(ポンプ-プローブ)

 物質に強烈なX線が当たって壊れる「前」の回折像が得られる → タンパク質などで、ダメージのない「本当の構造」の解明 (通常の放射光では、X線照射による損傷も無視できない)

2'. 無数の微結晶によるシリアルフェムト秒結晶構造解析(2の関連技術)
 → 壊れやすい結晶でもきれいに測定可能
 さまざまなポンププローブ測定が実施可能

コヒーレントな光(全体で位相の揃ったレーザー) 非結晶の構造解析,ナノレベルが見える顕微鏡,等(研究中) ポンプ-プローブ測定による、バクテリオロドプシンの光による構造変化

膜タンパク質は細胞膜上に存在するタンパク質で、細胞内外との物質の やり取りなど、生化学上非常に重要な役割を果たしている。 しかしこれらのタンパク質が実際にどのように「動いて」いるのかを解析 することは難しく、多くの議論がある。

そんなタンパク質の動きも、XFELの強烈な放射光とポンププローブ法によりある程度可視化が可能となってきている.

ここではバクテリオロドプシン(光駆動型のプロトンポンプ)の動作を解明 した例を紹介する.









Α



*Science*, **354**, 1552-1557 (2016)のSupplementary Materialsより



#### 本日のポイント

# 構造相転移と回折像の変化 構造相転移とともに今までスポットのなかった位置に回折が発生 →構造がどのように変わったのか、に関する情報が得られる 例えば:倍周期化 → 中間位置に回折出現

 ・放射光を用いたX線構造解析
 実験室系とは異なる方法でX線を発生させる
 強力な光源により、通常ではできない測定が可能
 cf. 微結晶の解析、可逆反応系のポンププローブ法 etc.

•新世代光源XFEL

極短パルス, 超高輝度, コヒーレンス光源 不可逆反応系のポンププローブ測定なども可能に