

## ERL から得られる硬 X 線を用いた先端的利用研究

### 1. はじめに

ERL は最新の超伝導線形加速器技術を用いた次世代 X 線光源であり、既存の放射光を遥かに凌駕する光源性能を持つ。高繰り返し、短パルス、高空間コヒーレンス、そして高輝度の特徴は超高速の原子動画撮影を可能とし、不均一系におけるナノスケールの構造決定が可能となる。

ERL が持つ特徴的なこれらの能力は、X 線科学の研究対象を“静的で均一”の系から“動的で不均一”の系へ変えるような明確なパラダイムシフトをもたらすであろう。いわば ERL から得られる光によって、これまで主として行われてきた“時間・空間一平均解析”から、新たに“時間・空間一分解解析”が実現可能となると言える。

それらの不均一系物質は今後も、触媒・バッテリー・超伝導・バイオ燃料・ランダムアクセスメモリ・スピントロニクスデバイス、光スイッチ等の中で必要不可欠な技術として使われ続けると考えられる。そこで、不均一機能材料がどのように稼働するか、時間的・空間的な直接情報として知ることは、それらの材料に、より良い機能を持たせるための設計指針を与え、最終的には人類が

直面する課題を解決し将来の生活をサポートするであろう。

一方、生命系も本質的に不均一で動的なシステムである。既存の放射光技術に基づいた構造生物学は合理的な創薬のための有用な情報である静的な原子座標を与えることに大きく貢献してきた。ERL は、これらに加え、細胞機能の不均一性や複雑性を解明することで生命科学やバイオ技術に更なる貢献を果たすであろう。

### 2. なぜ ERL が必要か？

#### 2.1. X 線源の変遷

20 世紀初頭より、X 線管は先駆者ヴィルヘルム・レントゲン（1901 年初代ノーベル賞受賞者）によって X 線撮影のために、またローレンス・ブラッグ（1915 年ノーベル賞受賞者）によって結晶構造解析のために不可欠なツールとして機能を果たしてきた。20 世紀半ばには、1947 年にゼネラル・エレクトリック社で初めて放射光が観測され、それより放射光施設は X 線管より数桁以上も輝度が高いビームを提供しており。X 線科学、および、イメージング・原子構造解析・分光学といった広い範囲の応用において数多くのブレークスルーを引き起こしてきた。21 世紀において ERL

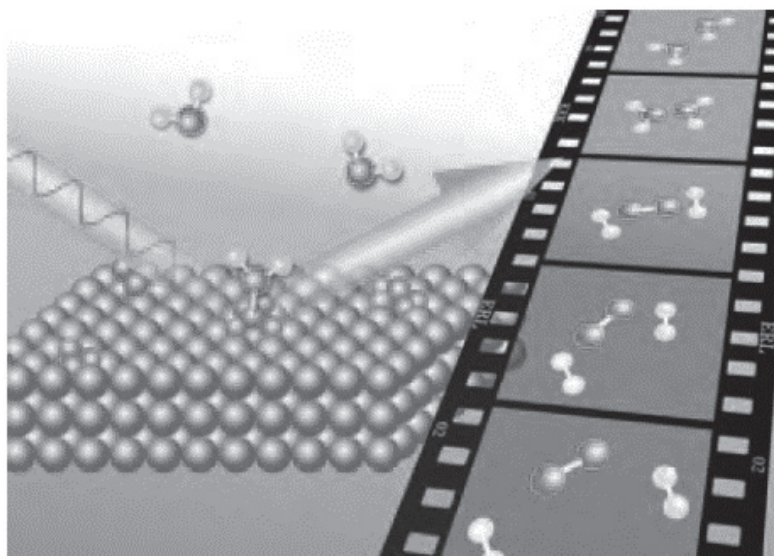


Fig. 1: ERL によるナノスケールの空間分解能かつ、その系が持つ自然な時間スケールでの、不均一機能性材料における動作状態の追跡[1]

は新しい時代の科学研究を先導し、既存の施設では不可能な発見をもたらす能力を持っている。

## 2.2. X線科学による持続可能な社会の実現

政府は、より持続可能な社会を実現するためにグリーン/ライフ・イノベーションの促進を日本の成長戦略として振興しているが、化石燃料の減少、再生可能エネルギーの生成、先進の材料の開発、重病の予防、健康的なライフスタイルの達成といった、我々の社会が直面している重要な問題を解決するためには科学的なブレークスルーが必要不可欠である。ERLは超伝導空洞を用いた線形加速器技術に基づき、静的・均一系のみならず動的・不均一系の観測を可能とする。この、不均一な機能材料が実時間スケール・ナノスケールでどのように動作するか解き明かす能力、すなわち、動作下におけるナノスケールでの原子・電子構造、化学組成、磁気的性質を特徴づけるための新しい手段は、上記の難問解決のためのブレークスルーと成りえるX線科学の革新的な進歩である (Fig. 1)。

## 2.3. ERLにおける電子ビームの平衡性能

既存の蓄積リング技術の最も決定的な制限は、電子ビームの平衡性質である。電子バンチが蓄積リング内を何回も周回するため、電子ビームのサイズ、発散、バンチ長は平衡化され、最終的に初期電子ビームのパラメーターは広がったものとなる。一方、ERLは基本的に線形加速器であり、電子バンチは加速され、リングを1回周回した後減速され、ダンプする。この特徴はERLに固有の利点である。この最先端の直線加速器技術は既存の蓄積リング型光源と比べて格段に高い性能を生み出し、次世代X線光源の基礎技術としての将来的な拡張性も保証するものである。

## 2.4. ERLの光源性能Ⅰ：短パルス

ERLの主要な特徴は短パルス、空間コヒーレンス、ナノビームである。短パルス性能に関しては、電子バンチがリングを1周しバンチ長が伸びること無くダンプする間にERLの電子バンチ長は

100 fs から 1ps に保たれている。ERLのバンチ長は蓄積リングの典型的なバンチ長 (100 ps) より2桁短く、サンプルにダメージを与えることなく、その系のもつ自然な時間スケールで超高速現象における動的過程の観測を可能とする。実験の対象は、触媒化学反応、光合成系、機能材料の相転移といった、広範囲の動的過程が含まれる。

## 2.5. ERLの光源性能Ⅱ：空間コヒーレンス

ERLからの放射光における2つ目の重要な特色は、そのとても小さい電子ビームサイズと、ERLで達成されるビーム発散度の結果得られる、高い空間コヒーレンスである。一般的に蓄積リングからの放射光の空間コヒーレンスは本来とても低い。したがって、そのような低い空間コヒーレンスのX線ビームを用いて原子分解能で構造決定を行うためには、測定物質中の空間コヒーレンス (結晶秩序) が必須となり、これが理由で、原子レベルの構造決定における適応性は周期的な均一サンプルのみに制限されている。この状況はERLによって劇的に変わる。ERLの高い空間コヒーレンスによって、非周期で不均一な物質からでも、散乱されるX線ビームの干渉を記録することが可能となり、したがって、原理的にはX線の波長オーダー ( $\sim 0.1$  nm) の空間分解能で不均一物質の構造解析が可能となる。この特徴により実現される、不均一な機能材料に広く適応できる構造解析はX線による原子可視化技術に大幅な改革をもたらす。

## 2.6. ERLの光源性能Ⅲ：ナノビーム

同時に電子ビームの発散角は17 pmrad程度となる。これは既存の蓄積リングの発散角 ( $\sim 1$  nmrad) と比べおよそ60分の1の値で、軟X線の回折限界 ( $\lambda = 0.2$  nm) とほとんど等しい値であり、回折限界のX線ビームを用いるとナノメートルサイズ集光が可能となる。これがERLの3つ目の特徴である。X線電子分光 (XPS)、X線吸収分光 (XAS)、X線発光分光 (XES)、X線磁気二色性 (XMCD)、共鳴非弾性X線散乱 (RIXS) といったX線の分光学的手法は、ナノメートルオー

ダーの空間分解能において不均一物質の電子的・磁氣的性質を調査するのに強力な手法となる。

## 2.7. ERL と SASE-XFEL の比較

SASE-XFEL と比較すると、SASE-XFEL と ERL の光源特性は異なっており、いくつかの点で相補的である。SASE-XFEL は比較的low繰り返しで、高いピークパワーの X 線パルスを生ずる。一方、ERL は比較的lowピークパワーと非常に高繰り返し (1.3 GHz) の X 線パルスを生ずる。総計でこれらの時間平均された光子束 (単位時間当たりの光子数) は 2 つの光源で同等である。SASE-XFEL ではその高いピークパワーのためナノメートルサイズまで集光して実験を行うとサンプルの破壊を伴う測定となる。この意味では、SASE-XFEL は極限環境における物質研究の全く新しい機会を与えているとも言える。一方、ERL パルスのピークパワーは多くの物質のダメージ閾値を超えないため、数多くのビームラインとユーザーに空間コヒーレンス・ナノビーム・短パルスを持った高品質なビームを提供することが可能となる。

## 3. パルス X 線を用いたポンプ・プローブ計測法

### 3.1. ポンプ・プローブ計測法とは

ここでは光をトリガーとした超高速な構造変化を時間分解 X 線実験で観測する技術について解説する。時間分解測定で観測する励起状態が長寿命であれば連続 X 線と高速検出器を利用した時間分解 X 線測定は十分に実施可能であるが、その寿命が短くなるほど過渡的なシグナル量は減少するので、現実的にはマイクロ秒以下の時間スケールにおける構造変化の情報を得るためには、高強度パルス X 線を用いたポンプ・プローブ法が必要となる。ポンプ・プローブ法とはポンプ光によって作り出した励起状態をプローブ光によって観測する手法である。ポンプ光とプローブ光の遅延時間を変えながら測定を行うことで、励起状態の時間変化をストロボ撮影のように追跡すること

が可能となる。近年、紫外から赤外波長域の超短パルスレーザーを用いたポンプ・プローブ法により、フェムト秒オーダーの分子振動や電子遷移をリアルタイムで観測できるようになったが、それとは相補的にプローブ光にパルス X 線を用いた時間分解 X 線測定を実施すれば、原子スケールの動的構造情報を直接的に得ることが可能となる。

### 3.2. 蓄積リング型放射光におけるピコ秒パルス X 線発生

現在、パルス X 線を生ずさせる方法としては、放射光や X 線自由電子レーザー (XFEL) といった加速器光源を用いる方法や、レーザープラズマを用いる方法などがあるが、ここでは、主に加速器光源のパルス X 線について解説を行う。放射光は、電子蓄積リング中の電子の軌道が磁場によって曲げられることで円運動の接線方向に放出される電磁場であるが、電子は放射光発生によって失うエネルギーを加速空洞の高周波数電場から補っている。この加速空洞を特定の位相周りで通過する長さ数 cm 程度の電子の集団 (電子バンチ) は蓄積リング内を安定に回り続けることができる。上述のように電子バンチが磁場によって加速運動すると、その空間的広がりに対応した時間幅を持つ電磁波 (放射光パルス) が発生する。放射光パルスの時間的性質は高周波加速の周波数、蓄積リング中の電子ビームサイズ、電子バンチあたりに蓄積された電子数などの条件によって異なるが、パルス時間幅は半値幅で概ね 100 ps 程度である。この放射光の時間的性質を利用することにより、ピコ秒オーダーの時間分解 X 線実験が可能となる [2]。

### 3.3. SASE-XFEL におけるフェムト秒パルス X 線発生

現在、日本、米国で稼働中の XFEL は、線形加速器と SASE の原理を用いている。光電放出や電界電子放出を用いて電子銃から良質なパルス電子ビームを取り出し、線形加速器によってほぼ光速に加速させ、長距離アンジュレーターに入射させる。アンジュレーターの中を蛇行する電子の



動きはお互いに強い相関を持ち、各電子の出す光が干渉することにより X 線領域の自由電子レーザーが SASE として発光する。放射光のリング型加速器とは異なり、XFEL では電子を蓄積させる必要が無い、加速器内における進行方向の電子バンチ圧縮が容易となる。進行方向位置に相関したエネルギー変調を高周波電場によって付けることで線形加速器内においてバンチ圧縮が実現され、最終的には数ミクロン程度まで電子バンチは圧縮される。したがって XFEL では 100 fs 以下の高強度パルス X 線を用いた物性研究を行うことが可能となる[3]。

### 3.4. ポンプ・プローブ法の時間分解能

ポンプ・プローブ法の時間分解能は検出器の時間応答性で決定されるものではなく、2 つのパルスの遅延時間のみに依存する。ポンプ光として光学パルスレーザー、プローブ光として加速器から発せられる X 線を用いる時間分解 X 線測定では、その最少時間分解能は、両光源のパルス幅で決定される。ポンプ光である光学パルスレーザーでは 100 fs 以下の光源は広く流通しているため、時間分解 X 線測定の時間分解能はプローブ光である X 線のパルス幅に依存し、放射光では自然バンチ長に起因した 100 ps 程度の分解能、XFEL ではバ

ンチ圧縮による 100 fs 以下の分解能が原理的には得られる。

## 4. スピン転移に起因した超高速分子構造変化

### 4.1. 鉄錯体におけるスピントロニクス

鉄(二価)錯体は電子状態、磁性、そして分子構造におけるダイナミクスが強く結び付いており、近年、外部要因によって低スピン(LS)基底状態から高スピン(HS)励起状態へのスピン転移を示すスピントロニクス現象について、特に精力的に研究が行われている。HS 状態から LS 状態への緩和ダイナミクスの研究は基礎物性の理解のみならず、長寿命の HS 状態を持つ分子の設計においても重要であり、磁気記憶装置や双安定デバイスの開発に貢献することが期待される。また超高速スピン転移現象を用いたナノスケールでの機能素子といった新しい技術も提案されており、このような研究において、より短い時間スケールでの局所的な構造・電子状態・スピン状態の情報を得ることは必要不可欠である。

### 4.2. 時間分解 XAFS 法

ポンプ・プローブ法を用いた時間分解 XAFS の繰り返し周波数は光源の周波数、検出器系の動作

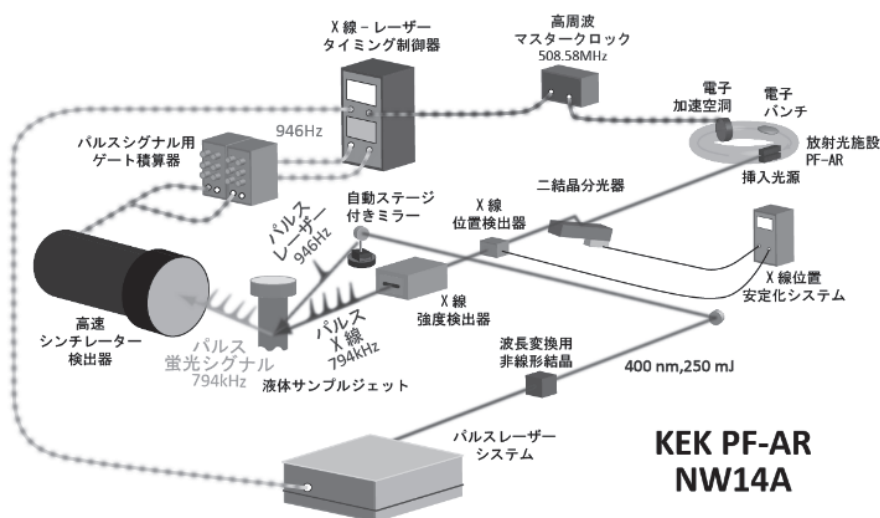


Fig. 2: 蓄積リング型放射光におけるポンプ・プローブ法を用いた時間分解 XAFS の測定システム概略図

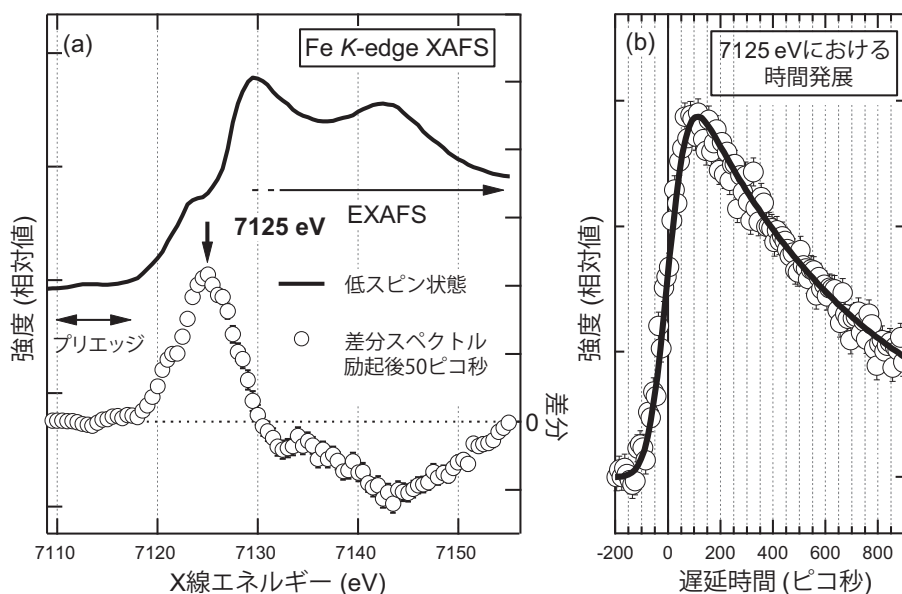


Fig. 3: (a)基底状態が低スピン状態である $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{phen})_3]^{2+}$ 水溶液の Fe K 吸収端における XAFS スペクトル (実線) と光励起後 50 ps における過渡吸収差分スペクトル (白丸). (b)横軸を X 線とレーザーの遅延時間としてプロットした 7125 eV における強度の時間発展.

周波数、励起状態寿命、等を考慮して決定されるが、放射光における測定では一般的に高強度パルス X 線が得られる高電荷密度孤立バンチを含む運転モード時に実施されるため、最大繰り返し周波数は 1 MHz 程度の孤立バンチ周波数となる。

Fig.2 に KEK PF-AR における時間分解 XAFS 測定システムの概略図を示す。通年シングルバンチモードで運転されている PF-AR において周回周波数 794 kHz で出射される高強度パルス X 線は、Si(111)結晶を用いた二結晶分光器によって単色化され、湾曲円筒ミラーによって、試料位置に集光される。本システムでは、施設のマスタークロックと同期した 946 Hz のフェムト秒 Ti:Sapphire レーザーをポンプ光として用いており、レーザー光は必要に応じて波長変換を行った後、サンプルに集光される。この際、ポンプ光とプローブ光の幾何学的な重ね合わせを十分に考慮すること大切である。本概略図は蛍光法におけるセットアップを示してあるが、検出器はパルス計測を考慮してナノ秒スケールの応答速度を持つシンチレーションプローブを用いている。ポンプ光とプローブ光の周波数が合っていない場合には、電氣的ゲートを利用可能な検出器系を用い

てレーザー励起された X 線シグナルのみ検出する方法、チョッパーを用いてサンプルに入射する前に周波数を合わせる方法、または本システムのようにシグナルをパルスで計測し適当なパルスを選択する方法、等が用いられる。また、この概略図において溶液のサンプルはマグネットギアポンプによって循環されているが、時間分解 XAFS では X 線に加えパルスレーザーもサンプルに入射するため、それらによる試料の損傷状況を十分に管理して測定を行う必要がある。

#### 4.3. スピントロクロオーバーと構造変化の直接観測

上記システムを用いて鉄二価低スピン錯体における超高速光誘起スピン転移を測定した例を示す[4]。定常状態で測定された、基底状態が低スピン状態である $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{phen})_3]^{2+}$ 水溶液の Fe K 端 XAFS スペクトルを、Fig.3(a)の上部に実線で、レーザー励起後 50 ps 後とレーザー励起前の差分スペクトルを Fig.3(a)の下部に丸印で示した。この系における Fe 3d 電子のスピンクロオーバーは、配位子場とフント則の競合に起因しており、Fe-N 間の結合距離の変化とスピントロクロオーバ

ーは密接に関係している。丸印の差分スペクトルにおいて 7125 eV に見られる正のピークは Fe 1s-4p 双極子遷移の増大を表しており、これはレーザー励起後 50 ps の高スピン励起状態において、Fe-N 間の結合距離が伸びたことに起因する。また 7135 eV 以上で観測される EXAFS 振動の変調も、主に中心金属である鉄と、第一配位元素である窒素の距離の変化に由来する。加えて、より直接的に Fe 3d スピン状態を示す Fe 1s-3d 四極子遷移に起因した吸収端前のプリエッジピークにおいても、スピנקロスオーバーに起因した光誘起変化を観測することができる。

Fig.3(b)は[Fe<sup>II</sup>(phen)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>の XAFS スペクトルにおいて、エネルギー7125 eVにおける強度の時間発展を、縦軸を強度、横軸をポンプレーザーとプローブ X線の遅延時間としてプロットしたものである。測定された各遅延時間における強度を丸印で示した。その振る舞いは、パルスレーザー励起により強度が急激に増加し、その後、緩やかに減少していく。この強度変化は、ステップ関数を持つ一次減衰関数を  $\rho = 60$  ps の X線の時間幅で畳み込んだ関数(実線)でフィットすることが出来る。すなわち光励起直後に HS 状態になった系がピコ秒のスケールで LS 状態に緩和していく様子を観測している。

このように時間分解 XAFS を用いると、極めて短い時間の機能の変化を、その機能変化と結びついた原子スケールの分子構造変化と合わせて同時に直接観測することができるため、その反応過程における電氣的・科学的性質の詳細な知見を得ることが可能となる。

## 5. タンパク質の協同的構造ダイナミクス

### 5.1. タンパク質の構造変化と機能出現

タンパク質は、アミノ酸がアミド結合を介して連結し 1 本の鎖となって折り畳まれた構造を取り、その折り畳まれた構造が、酵素活性などの生体内の生命活動にとって重要な機能に深く関わっている。特に、折り畳まれたタンパク質が、ある特定の動き(構造変化)をすることで、栄養素を分解したり、筋肉を動かしたりといった様々な機

能を果たしている。しかし、実際のタンパク質が、高速に動きながら機能している姿を動的に、しかも水中で室温といった生体内の環境と極めて近い状態で観測することは困難であった。ここでは、ポンプ-プローブ X線溶液散乱法から得られたデータを用いて、溶液中のタンパク質が光の刺激によって協同的に構造を変えていく様子を直接観測した研究例を紹介する。

### 5.2. ガス分子の解離をトリガーとしたヘモグロビンの構造変化

本研究の対象となったタンパク質は、二枚貝がもつヘモグロビンで、血液中で酸素運搬の機能を担っている。二枚貝のヘモグロビンは人間の血液中にある四量体のヘモグロビンとは少し異なり、二つのサブユニットが水素結合を介して弱く結合した二量体構造を取っている。二つのユニットにはそれぞれ、鉄-ポルフィリン錯体(ヘム)が収まっており、その鉄に酸素や一酸化炭素などのガス分子が可逆的に結合し運搬される[5-7]。

二量体ヘモグロビンの二つのユニットに結合したガス分子がタンパク質から解離すると、その協同的効果によって、二つのユニットの位置関係が相対的に変化し、ガス分子が結合しやすい構造(R型)から結合しにくい構造(T型)へと変化すると考えられていた[8-10]。しかしながら R型と T型の静的な構造の情報だけでは、詳しい構造の動きや中間構造についての情報を得ることはできない。特にヘモグロビンに代表されるアロステリックタンパク質では、局所的な構造変化が機能発現に重要な高次構造変化を誘起するため X線を用いた時間分解測定によって動的構造変化を追跡していくことは重要である。そこで我々の研究グループでは、KEKの放射光科学研究施設のビームライン NW14A を用いて、時間分解 X線溶液散乱法を用いた動画撮影に挑戦した。

### 5.3. 時間分解 X 線溶液散乱法

この実験では、一酸化炭素分子が結合した二量体ヘモグロビンを含む溶液にレーザー光と X 線をほぼ同じタイミングで繰り返し照射して X 線散乱データを測定することにより、最終的にタンパク質の構造変化の情報を取り出すことができる (Fig. 4)。NW14A は周期長が異なる 2 つのアンジュレーターが設置されているが、測定に十分な X 線強度を保つために 2 つのアンジュレーターのギャップを閉じることで 15.7 keV (0.79 Å) の高強度 X 線を作り出し、なおかつ、溶液散乱曲線の高分解能な測定が可能となるように、X 線多層膜ミラーを用いることでエネルギースペクトルが 5 % エネルギー幅の対称構造を持つようにした。この際、1 パルスあたりの X 線光子数は  $3 \times 10^8$  photons/pulse である。PF-AR リングから発せられる 100 ps パルス X 線の周波数は 794 kHz であるが、ヘモグロビンにおける光励起状態が基底状態へ緩和する時間を考慮し、かつレーザーの周波数に合わせたポンプ-プローブ測定を行うため、X 線はチョッパーと高速シャッターによって 10 Hz に間引かれてサンプルに入射する。ヘモグロビンの励起には、光パラメトリック増幅器で 532 nm

に波長変換した光を用いるが、ピコ秒～ナノ秒、およびナノ秒～ミリ秒の時間スケールの変化を追跡する際は、それぞれ NW14A に設置されている Ti:Sapphire フェムト秒レーザー、および Nd:YAG ナノ秒レーザーを用いて時間分解測定を行っている。フェムト秒レーザーを用いる時はその高い尖頭値強度によるサンプルへのダメージを考慮し、光学グレーティングによって数ピコ秒のパルス幅に伸ばしてからサンプルを励起している。ここで、レーザーのエネルギー密度は  $\sim 0.5$  mJ/mm<sup>2</sup> に調整され、レーザーと X 線は、ほぼ同軸からサンプルに入射し、サンプル表面においてマイクロメートルの位置精度で両者が重なるように調節される。X 線散乱イメージは 165 mm 径を持つ二次元 CCD 検出器 (MarCCD 165、MarUSA) を用いて測定された。He パスを用いることでバックグラウンドとなる空気散乱を抑え、カメラ長を  $\sim 300$  mm にすると q 値が  $0.15 \sim 2$  Å<sup>-1</sup> の散乱イメージを取得できるため、ヘモグロビンの光反応における構造変化を  $d = 0.1$  Å 程度の分解能で捉えることが可能となる [11]。

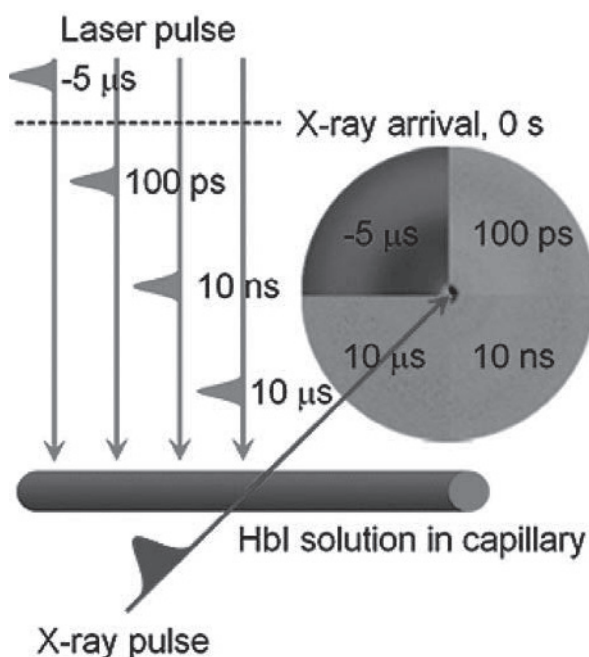


Fig. 4: Time-resolved X-ray solution scattering data were acquired using the pump-probe method at the beamline NW14A. The sample, aqueous solution of HbI ligated with CO ligands [HbI(CO)<sub>2</sub>] contained in a capillary of 1 mm thickness were excited with 35 ps laser pulses at 532 nm. Time-resolved scattering curves were collected at 40–70 pump-probe time delays between the laser pump pulse and the X-ray probe pulse in the range from 100 ps to 56.2 ms as well as at a reference time delay of  $-5$  μs. To attain a signal-to-noise ratio good enough for data analysis, about 20 images were acquired and averaged at each time delay.



#### 5.4. ねじれ運動によるガス分子の放出

本研究では、常温で試料にレーザー光を照射し、二量体ヘモグロビン分子内のヘムと一酸化炭素の結合を切断して、瞬間的に一酸化炭素がタンパク質から解離した状態を作り出した。そして、この過渡的な状態から始まるタンパク質の構造変化を、時間分解X線溶液散乱法を用いて、レーザー光とX線の時間を系統的にずらしながら逐次観測した。Fig.5における、エラーバー付きのプロットで示した各時間における差分スペクトルは、光励起前のリファレンス溶液散乱曲線との差分を取ったものであり、エラーバー無しの実線は解析によって得られたフィット結果である。各時間点における“ヘモグロビンの構造”と“ヘモグロビンと溶媒との相互作用”を分子動力学シミュレーション、および量子化学計算によって見積り、そこで得られた値を元にグローバル・フィッティングによる構造解析を行う。反応進行度の時間変化を特異値分解法により詳しく解析すると、光励起後 100 ps~10 ms の時間スケールにおける励起状態において 3つの独立な中間状態 (I1, I2, I3) が存在し、それぞれの比率が刻々と変化している様子が、さらには一つのユニットから一酸化炭素が光解離した状態と、両方のユニットから解離した状態が存在し、それらの状態は同じ構造変化を引き起こすことが明らかになった。Fig.6 は中間状態の構造における 2つのユニットの距離 (それぞれのヘム間の距離)、相対的な角度、および、構造変化によってユニット間界面において出し入れされる水分子 (サブユニット間の丸) の数を示したものである。波長 532 nm のパルスレーザー照射による一酸化炭素の光解離をトリガーとして、R 型に類似した解離状態である I1 中間状態が光励起後 100 ps 以内に生成され、その後 R 型に類似した別の解離状態 I2 中間状態へと  $3.2 \pm 0.2$  ns の時定数を持って変形する。続いて、ユニットの回転と、ヘム間距離の減少、およびユニット間界面における水分子の増加を経て T 型に類似した I3 中間状態が生成する。I2 中間状態から I3 中間状態への変形が起こる時定数は、一酸化炭素の解離が 1つのサブユニットで起きたか、両方のサブ

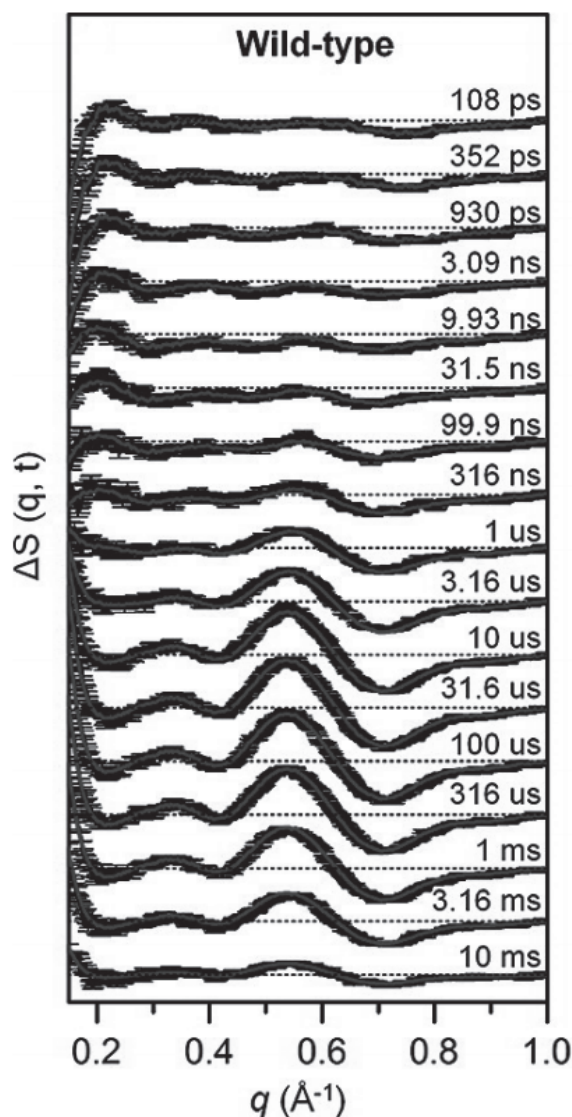


Fig. 5: Picosecond pump-probe X-ray solution scattering for wild-type HbI(CO)<sub>2</sub>. Time-resolved difference X-ray solution scattering curves,  $\Delta S(q, t)$ , measured for solution samples of wild-type HbI are shown. The time delay after photoexcitation is indicated above each curve. For clarity, only data at selected time delays are shown. Experimental curves are compared with theoretical curves that were generated from linear combinations of three time-independent species-associated scattering curves extracted from the kinetic analysis.

ユニットで起きたかに依存して異なる値を取り、前者では  $730 \pm 120$  ns であり、後者では  $5.6 \pm 0.8$   $\mu$ s となることが明らかとなった。その後、一



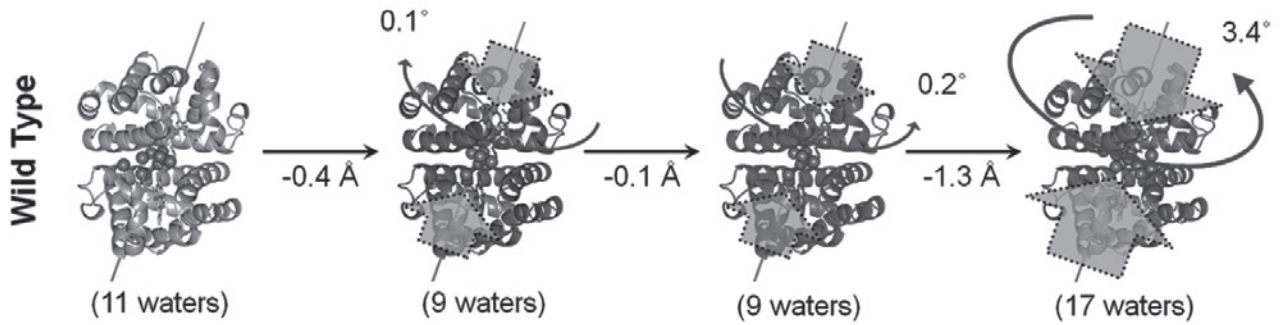


Fig. 6: Structural dynamics of HbI extracted from the species-associated scattering curves using structure refinement. The green and blue arrows are used to indicate the relative magnitudes and directions of the changes in the heme–heme distance and subunit rotation angle relative to HbI(CO)<sub>2</sub>. The structural transitions induce a change in the number of interfacial water molecules (shown in red), well-organized at the interface of the two subunits.

酸化炭素が再結合し系は基底状態へと戻る。このようにして、一酸化炭素の光解離をトリガーとしてヘモグロビン分子が 100 億分の 1 秒(100 ps)から 100 分の 1 秒(10 ms)程度の時間内に徐々に構造変化し、二つのユニット間の距離が短くなるとともに、二つのユニットがねじれ運動で形を変化する様子が、100 億分の 1 秒精度の X 線動画として直接観測された[12]。

## 6. 超高速光デバイス材料開発

### 6.1. 光を用いた状態制御

光を用いた物質の状態制御は、従来の物質科学が基盤とする「安定」で「静的」な構造とは異なった、「動的」で「変化する」構造に基づく新しい物質科学の構築という基本問題として今、幅広い興味を集めている。これに加えて、次世代の光情報処理素子の開発のためのキーテクノロジーとしても期待されている。ここで紹介する研究は、遷移金属酸化物に代表される強相関電子材料において、安定な反強磁性絶縁体相を光励起することで、僅か 100 億分の 1 秒だけ出現する別の軌道秩序相を鋭敏に検出することを実現したものである。また観測された物質相は、温度など通常の熱力学的方法では実現されていなかった光励起状態特有のものであり、従来の静的で安定な物質世界とは別世界の原子レベルの秩序構造が、光によって実現できることを初めて示した。この発見は、熱雑音などの影響を受けない新たな超高速光

デバイス材料を開発するための新方針として期待される。

### 6.2. ペロブスカイト型マンガン酸化物の光誘起相転移

遷移金属酸化物に代表される強相関電子材料は、近年の物性物理学の重要な研究課題として精力的に研究されており、また工業的には高集積メモリー (ReRAM) などの電子デバイスへの応用が期待されている。

中でもペロブスカイト型マンガン酸化物は、負の巨大磁気抵抗効果の発見を契機に精力的な研究がなされてきた。ペロブスカイト型マンガン酸化物は低温では安定で静的な構造として、d 電子軌道が規則正しく秩序だった「軌道秩序」状態 (Fig. 7 左下) をとり、絶縁体状態になっている。いわば遷移金属と周囲の酸素原子との間の化学結合に関与する電子軌道が、おのおの規則正しく異方的な並び方をとるため電子は動きづらい状態になっているのである。これに対して高温ではこの秩序が消滅し、d 電子軌道は皆等方的な状態 (Fig. 7 左上) となり、電子は動きやすくなるため強磁性金属相を示す。

これまでにペロブスカイト型マンガン酸化物の低温条件下で実現する絶縁体相は、磁場、圧力、光照射などの外場により相転移を起こすことが報告されている。特にパルスレーザーを用いた測

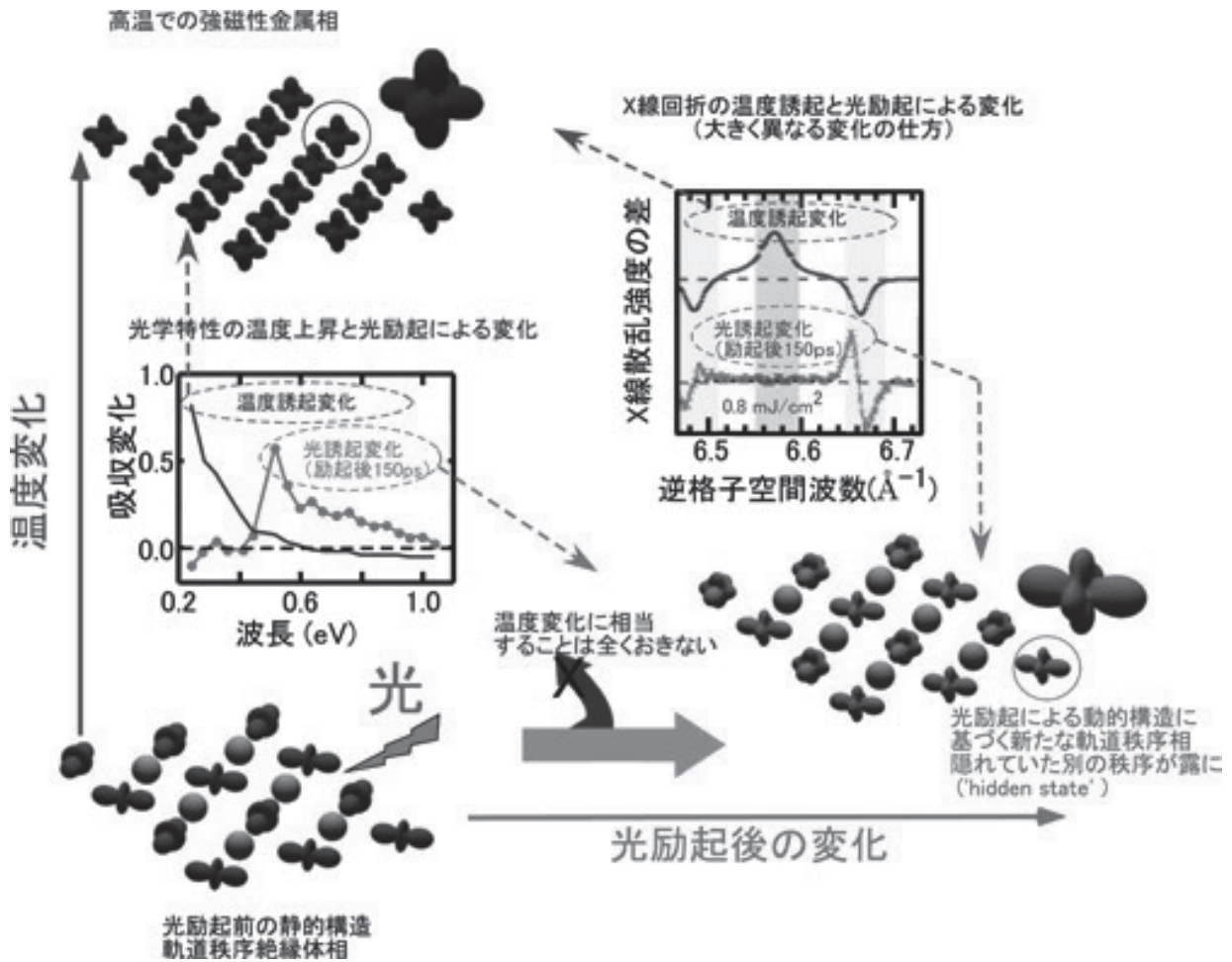


Fig. 7: 光励起前の静的構造と、温度変化による静的な構造変化、ならびに光励起による動的構造変化との比較。「光学特性の温度上昇と光励起による変化」；光励起直後、0.5 eV(光の波長変換では約 2480 nm)辺りにピークが出現する。光通信では 1260 nm より長い領域の波長が利用されており、この領域内での変化は超高速光デバイスへの可能性を示す。「X線回折の温度誘起と光励起による変化」；高温による変化では中央に一つのピークができる。これは秩序が無くなったことを示し、金属相になったことを表す。一方、光励起による変化では、両端のピーク(秩序相)が保たれたままずれている。これは熱による変化では現れない新しい秩序相であることを示している。

化との類推から、高温条件下で実現する強磁性金属相の構造と類似していると考えられてきた。光により一瞬にして絶縁体相から金属相へ転移する性質は、超高速スイッチングなど超高速光デバイスへ有用であるため、その構造の解明が求められていた。

### 6.3. 時間分解 X 線回折法

光により過渡的に出現する新物質相の動的結晶構造を原子レベルで調べるには、X線回折測定が有効であるが、高速現象の測定にはレーザーパルスと X線パルスを交互に繰り返し入射する測定

法(ポンプ・プローブ法)により、周期的に非常に短い間だけ出現する状態を、パルス X線を用いて捕らえることを必要とする。

他方、試料面ではマンガン酸化物へ侵入する深さ(侵入長)が X線と励起レーザー光では、それぞれ数マイクロメートルと数十ナノメートル程度と、2桁以上も異なるため、通常マンガン酸化物結晶試料では、レーザーによって励起されていない成分の情報しか得ることができなかった。そこで侵入長の問題を回避するために、厚さ 80 ナノメートルの薄膜形状の結晶をレーザー積層エピタキシー成長法により作製した(Fig. 8)。この

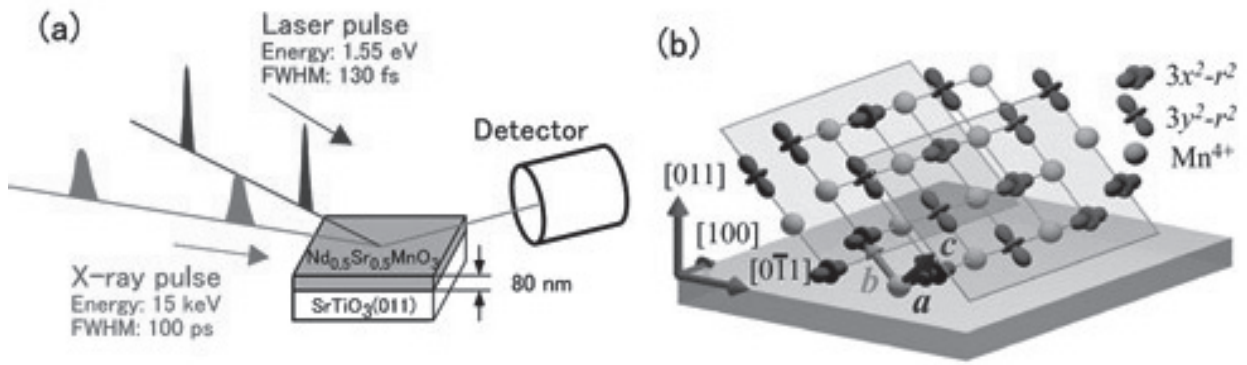


Fig. 8: 本研究のためにパルスレーザー堆積法によって準備された、マンガン酸化物の薄膜(a)とその結晶、電子構造模式図(b)。FWHMにパルスの半値全幅を示す。

ような試料開発によって、わずかな量の結晶でも新原理に基づく物質・材料開発が行えること、さらには光デバイスなどに有用な超薄膜形態そのもので光励起状態の動的構造研究が可能であることが実証された。

#### 6.4. 光によって励起される隠れた物質相

本研究では蓄積型放射光のパルスX線によって100億分の1秒の間だけ出現する新しい物質相の構造を観測することに成功した[13]。観測された構造は Fig.7 右下に示すように、従来の予測 (Fig.7 左上) とは全く異なっており、結晶中で光励起前 (Fig.7 左下) と異なる新たな軌道秩序状態が生じていることがわかった。これは光励起で生み出される動的構造に基づく物質相が、静的安定構造に基づく従来の物質科学の考え方からは全く予想外の、新しい秩序をもったものであるこ

とを示している。また、これは温度による相転移では到達することのできない「隠れた物質相」を、光によって実現可能であることを実証している。

#### 6.5. 光機能材料開発への貢献

このような隠れた物質相の実在性は、物質の存在形態に関する基本問題として長く続いた議論に対し一つの答えを与え、熱擾乱を受けないデバイス材料開発の新たなフィールドを拓いた。

また本研究で開発された時間分解X線回折法は、原子スケールにおける極めて短い時間(100億分の1秒)の変化を、その光学特性などの物性変化と結びつけながら、同時に直接観測することを可能にする。これは超高速な光現象のメカニズムを動画として観測することができるという意味で極めて画期的なものである。このように光によって光学特性、伝導性、磁性等の物性が超高速変

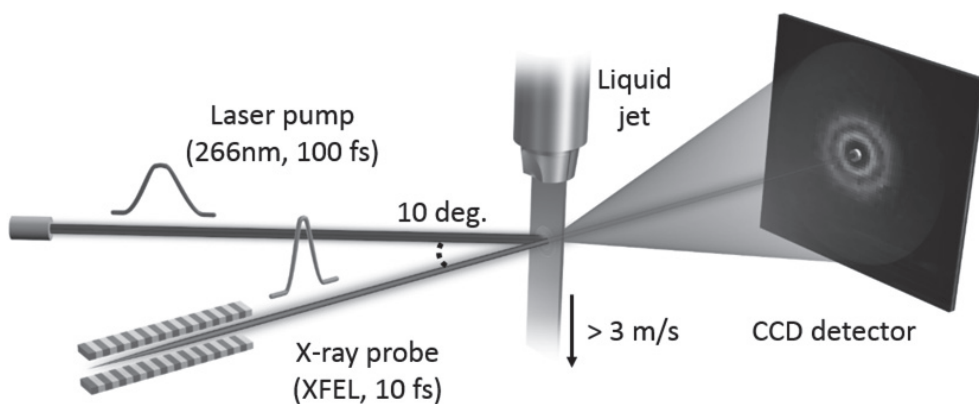


Fig. 9: XFEL を利用したフェムト秒時間分解 X 線散乱測定 of 概略図



化する現象を詳しく探求することで、超高速な超微小メモリや相スイッチの材料開発やデバイス動作その場解析が推進されることが期待される。

## 7. 溶液中における化学反応の可視化

### 7.1. 分子動画による化学反応の実時間観測

X線自由レーザー (XFEL) を利用したフェムト秒時間分解 X 線散乱測定を行うことで、化学反応の進行に伴い分子の構造が時々刻々と変化する様子を、分子動画として実時間で観測することに成功した研究を紹介する[14]。水素結合や親和性等の弱い分子間力で複数の分子が結びついた分子会合体は、反応が拡散律速で制限される溶液とは異なり、初期分子配向や反応に関与する分子の数を定めることができるため、反応機構研究における理想的な始状態といえる。従って、超高速時間分解測定によって会体内反応の進行を追跡することは、化学反応研究の“究極”を目指す試みであるといえる。

### 7.2. XFEL を用いたフェムト秒 X 線時間分解測定

測定の概略図 (Fig. 9) に示すように XFEL から発振する X 線と高精度に同期したパルスレーザー光をサンプルに照射して反応を開始させ、一定の遅延時間後に X 線パルス照射して反応中間体を X 線散乱シグナルとして測定する。XFEL における X 線のパルス幅は 10 fs なので原理的には 1 コマ 10 fs の時間分解能を持った分子動画を撮影することが可能となる[3]。X 線散乱スペクトルをフーリエ変換して得られる動径分布関数は、原子間の結合距離を直接与えるため、化学反応を分子構造変化として把握できる。そのため、分子構造論に基づいた反応論を議論することが可能であり、化学反応の実時間観測が実現される。まさにこれは化学反応式における“→”の「可視化」であり、反応メカニズムの詳細について新しいレベルの理解をもたらす。

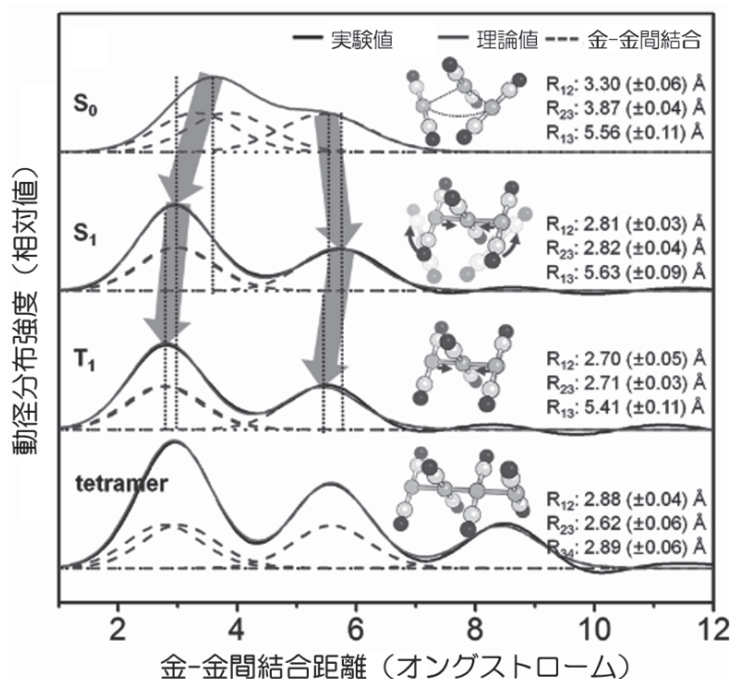


Fig. 10: 光化学反応の進行に伴う分子構造変化を示す測定データ。光励起前 ( $S_0$ ) と光励起後 ( $S_1, T_1, \text{tetramer}$ ) における動径分布関数。横軸は金原子からの結合距離であり、ピークは分子中の金-金間結合距離を表す。

### 7.3. 分子動画による分子生成の瞬間の可視化

ジシアノ金錯体中の金(I)イオンは金-金間親和性によって水素結合と同程度の強さで会合体を形成する。この会合体の最低励起状態において $\sigma$ 結合性軌道が占有されるため、光励起によって会合体中の金原子間に共有結合が生成される。したがってこの光反応を追跡すれば化学結合形成によって新しい分子が生まれる瞬間の可視化が実現される。先行されて行われた過渡吸収測定では、非常に洗練された光反応の制御が実現されており、本研究においても、その条件を用いて励起バンドを選択することで特定のサイズの会合体内の反応を誘起させて測定を行った。ジシアノ金錯体が3つ集合した3量体をターゲットにして、この会合体中の光化学反応をXFELから得られるフェムト秒X線パルスを用いて可視化した。その結果、光をあてる前の金錯体の集合体は、金イオン同士が折れ曲がった構造を持ち、弱い引力のため集合体としての構造も不安定に揺れているが(Fig. 10:  $S_0$ 状態)、光をあてた瞬間に金イオン間の距離は急激に縮まって強固な直線構造を取ることがわかった(Fig. 10:  $S_1$ 状態)。この構造変化から金-金イオン間に化学結合が形成され新しい分子が誕生したことが理解できる。この後、この分子はピコ~ナノ秒の比較的遅い時間スケールにおいて、構造変化を伴いながら(Fig. 10:  $T_1$ 状態)金錯体をもう一つ取り込み、さらに新しい分子へと変化する(Fig. 10: tetramer状態)。この分子からの発光の色は金錯体を取り込む前と比べて大きく変化するため、発光材料や分子センサーといった光機能材料としての利用も期待されているが、この機能性の出現は金イオンの数が増えた分子構造の変化に起因することも本研究結果から理解できる。

### 7.4. 分子動画撮影法を用いた光エネルギー変換材料に対する設計指針の提案

本研究では原子と原子との間に結合が形成され、新しい分子が生まれる瞬間をX線で捉えることに初めて成功した。このような新しい測定技術が基礎化学の発展に大きく寄与することは言う

までもない。特に本研究では、光によって引き起こされる、超高速な化学反応に関する詳細な知見を得ることに成功している。植物の光合成反応を模倣して光エネルギーを化学エネルギーに変換する人工光合成技術では「光の捕集」・「原子間のエネルギー伝搬」・「触媒部位における化学エネルギーへの変換」が重要な開発要素となっている。人工光合成の実用化のためには、結合状態や分子構造が変化する光励起直後の高エネルギー状態においてこれらの要素を高効率に駆動させる必要がある。今回開発された分子動画撮影法は光エネルギー変換過程を構造的な面から原子レベルで詳細に追跡することが可能なため、人工光合成の技術開発において基盤的観測技術となる手法である。高効率な人工光合成システムの開発に向けて、その設計指針を与えるために分子動画撮影法が活発に利用されることが期待される。

## 8. おわりに

本ノートでは短パルスX線を用いて行われる先端的な動的実験に関連した研究例を紹介した。講義では空間コヒーレンスやナノビームといった他の特徴を踏まえ、ERLでは想定される先端的な実験についてさらに詳しく議論を行う。

また、2.7で少し触れたが、超伝導加速空洞技術を用いたERLと比べ、従来の常伝導加速空洞を用いたSASE-XFELにおいて、実験的困難を生み出す要因は、低繰り返しに起因したデータ収集効率の悪さと、高パルス強度に起因したナノビーム集光下でのサンプルの破壊性である。しかしながら米国SLAC研究所では超伝導加速空洞を用いた高繰り返しのFEL計画が進行中であり、高繰り返し・低パルス強度というERLの長所として紹介した特徴を兼ね備えたFEL光源が数年後には登場する。今後、超伝導リニアック加速空洞を用いた高繰り返し光源は世界的に主な潮流になってゆくものと考えられる。

## 参考文献

- [1] Energy Recovery Linac Conceptual Design Report, KEK Report 2012-4, October 2012.

- [2] S. Nozawa, S. Adachi *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 61 (2010).
- [3] T. Ishikawa, *et al.*, *Nature Photon.*, **6**, 540 (2012).
- [4] S. Nozawa, S. Adachi *et al.*, *J. Synchrotron Rad.*, **14**, 313 (2007).
- [5] M. F. Perutz, *Nature*, **228**, 726 (1970)
- [6] W. A. Eaton *et al.*, *Nat. Struct. Biol.*, **6**, 351 (1999).
- [7] S. Adachi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **100**, 7039 (2003).
- [8] E. Chiancone *et al.*, *J. Mol. Biol.*, **152**, 577 (1981).
- [9] E. Antonini *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **259**, 6730 (1984).
- [10] A. Mozzarelli *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **271**, 3627 (1996).
- [11] K. Ichianagi *et al.*, *J. Synchrotron. Rad.*, **16**, 391 (2009).
- [12] K. H. Kim *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 7001 (2012).
- [13] H. Ichikawa, S. Nozawa *et al.*, *Nature Materials*, **10**, 101 (2011).
- [14] K. H. Kim, S. Nozawa *et al.*, *Nature*, **518**, 385 (2015).