

シリーズ

「短波長 FEL による原子分子光物理」 生体高分子立体構造解明における原子分子物理の役割

森田健悟

日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門

moribayashi.kengo@jaea.go.jp

平成 24 年 5 月 22 日原稿受付

1. はじめに

タンパク質など生体高分子の立体構造の情報は創薬に不可欠であるが、立体構造がわかっていない生体高分子が多く存在している。そのため、立体構造の解明の研究が盛んに行われている。その解明の代表的な方法の手順 [1, 2] は以下の通りである。(i) 生体高分子を結晶化する。(ii) SPring8 のような放射光から放射される X 線をこの結晶に様々な方向から照射し、回折像を作る。(iii) コンピューターを用いてすべての回折像を 2 次元の構造に変換する。(iv) これらの 2 次元構造からトモグラフィ法により立体構造を作り上げる。しかしながら、この方法はすべての生体高分子に適用できるわけではない。例えば、創薬で重要な膜タンパク質など結晶化困難な生体高分子には、この方法は適用できない。Neutze らは、この方法が適用できない生体高分子の立体構造を解明するために図 1 に示す実験手法、すなわち、単分子に X 線を照射して回折像を作ることを提案した [3]。結晶化された生体高分子に X 線を照射すると 1 回の照射で非常に多くの回折像を得ることができ、これらの回折像を重ねあわせて平均化することにより高い分解能の立体構造を求めることができる。一方、単分子照射では 1 回の照射で 1 つの回折像しか得ることができないので、個々の回折像から得られる構造の解像度を高くする必要がある。そのため、非常に高強度な X 線が要求される。このような高強度 X 線の必要性からアメリカ、ヨーロッパ、日本で X 線自由電子レーザーの開発が 21 世紀に入って計画された。そして、2009 年にアメリカで、2011 年に日本で波長 1 Å 程度の X 線レーザーが発振した。

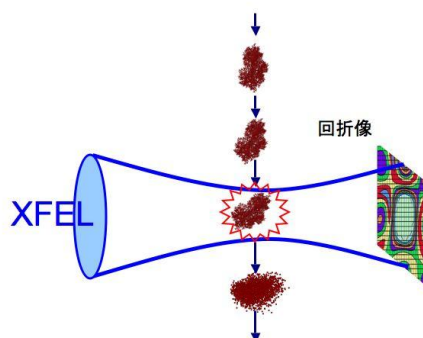


図 1: X 線自由電子レーザー光を用いた生体高分子の立体構造解明のための実験提案

2015 年頃、ヨーロッパでも同様の X 線レーザーを発振させることが計画されている [4]。X 線自由電子レーザー光を用いた生体高分子の立体構造解明の実験では非常に高強度 X 線が使用されるが、高強度になるにつれて X 線吸収過程などにより生体高分子中の多くの原子が電離を起こし、多くの損傷を起こすことが予測できる。回折像は生体高分子中の原子に束縛されている電子による弾性散乱(トムソン散乱)光から作られるので、原子の電離は回折像の強度を弱くすることが予測できる。さらに、生成した自由電子による X 線の散乱や生体高分子中での原子の運動は立体構造のノイズとして現れることも予測できる [3]。

2. 原子分子過程

図 1 の実験提案を行った Neutze らは同時に数 fs で X 線吸収、コンプトン散乱、オージェ過程により生体高分子中のほとんどの原子がイオンとなり、おのおのの原子に大きなクーロン力が掛かり、

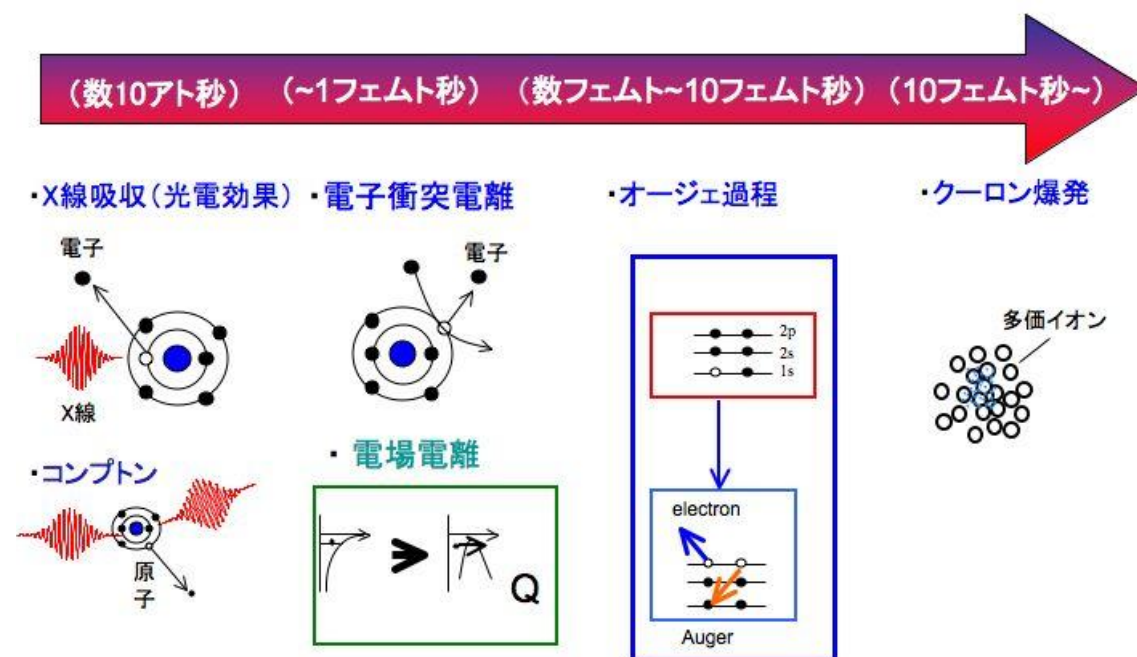


図 2: X 線自由電子レーザー光照射により照射後の時間とそのとき起き始める損傷のシナリオ

クーロン爆発を起こすと予測した [3]. さらに, クーロン爆発を起こすと原子の位置が変わり, 正確な立体構造を求めることができなくなるので, X 線のパルス幅は数 fs 以下にする必要があると述べている. このクーロン爆発の影響を抑える方法として Hau-Riege らは生体高分子を多重の水の層で囲むことを提案した [5]. クーロン爆発は外側の原子から起こるので, 最初に外側の層に位置する水分子がクーロン爆発を起こす. 一方, 内側にある生体高分子中の原子のクーロン爆発は外側の層の水分子のクーロン爆発が終わった後から始まることをシミュレーションで示した. それゆえに, 生体高分子中の原子のクーロン爆発の起こる時間を遅らせることができ, 50 fs 程度のパルス幅でも実験できる可能性があることを示した.

Neutze らのシミュレーションの後, X 線自由電子レーザー光の生体高分子照射での原子分子過程を用いた研究は分子動力学 (MD) 法 [6 - 9], レート方程式 [5, 10 - 14], 流体力学 [15], PIC (Particle in cell) 法 [16] など様々な手法で多くのシミュレーション研究が行われ, 多くの新し

い物理現象が発見された. それぞれの手法には以下の特徴がある. MD 法では生体高分子中の個々の原子, 個々の自由電子の運動を個別に取り扱うことができ, シミュレーションが高精度になる. しかしながら, 計算時間が非常に掛かるため小さなサイズの生体高分子(数 nm のサイズ程度)しか取り扱うことができない. 一方, PIC 法は標的(生体高分子)をいくつかのセルで分けてそのセルごとに損傷を計算する手法であり, MD 法よりも大きなサイズの生体高分子(数 10 nm のサイズまで可能)を取り扱うことができる. レート方程式, 流体力学では連続体モデルを使用するので, MD 法や PIC 法に比べれば計算精度は劣るが計算時間が短くて済む. そのため, 多くの計算を短時間で容易にでき, 第3節で述べるような実験可能な条件の探求の研究などに適している.

図 2 に上述の文献で用いられている原子分子過程のシナリオ(それが起こり始める時間との関係)を生体高分子の主成分である炭素原子の電子状態の変化を用いて示す. X 線が照射されると, まず, (i) X 線吸収(光電効果)(e.g., $C + h\nu \rightarrow$

$C^+ + e^-$ ）及び (ii) コンプトン散乱 (e.g., $C + h\nu \rightarrow C^+ + e^- + h\nu'$) が起こり, (iii) それらの過程で発生した自由電子による電子衝突電離過程 (e.g., $C + e^- \rightarrow C^+ + 2e^-$) が起こる. (iv) 同時に, 原子の電離で生成したイオンの電荷が作り出す電場により他の原子が電離する電場電離 (e.g., $C + E \rightarrow C^+ + e^-$) が起こる. (v) その数 fs 後, オージェ過程 (e.g., $C^{+*} \rightarrow C^{2+} + e^-$) が起こり始めるが, (vi) この頃になると生体高分子の内部の原子は正の電荷数を持つイオンになっており, この内部はプラズマ状態になる. 数 fs を超えたころから, 生体高分子の原子の電荷数が非常に大きくなり, クーロン爆発を起こし, 生体高分子は崩壊する. ここで, $h\nu$ と $h\nu'$ は過程が始まる前と後の X 線のエネルギーを表し, E と e^- はそれぞれ, 電場, 電子を表す.

図 2 で示した原子分子過程それぞれの損傷 (原子の電離など) への寄与の大きさは原子分子

物理の専門家にとって興味ある問題と思われるが, その寄与は波長 (λ), パルス幅 (τ), X 線フラックス (F_x) などによって変わり, 定量的に一般論を述べることは難しい. また, その寄与の大きさを示した論文は数少ない. ここでは, その数少ない論文に書かれている各過程の寄与の割合 (X 線吸収の寄与との比較) を紹介する. Hau-Riege らは $\lambda = 0.1 \text{ nm}$, $\tau = 20 \text{ fs}$, $F_x = 3 \times 10^{20}/\text{mm}^2$ の場合, パルスが通過した直後, 電子衝突電離過程及びオージェ過程の損傷への寄与はそれぞれ, X 線吸収の損傷への寄与の約 3 倍, 0.5 倍になると見積もった [10]. 一方, Nakamura らは $\lambda = 0.1 \text{ nm}$, $\tau = 10 \text{ fs}$, $F_x = 10^{21}/\text{mm}^2$ の場合, 電場電離による損傷への寄与は X 線吸収による寄与の約 3 倍になると見積もった [16]. その他の重要な過程として論文に寄与は書かれていないが, コンプトン散乱 [17,18] がある. コンプトン散乱の断面積は $\lambda = 0.1 \text{ nm}$

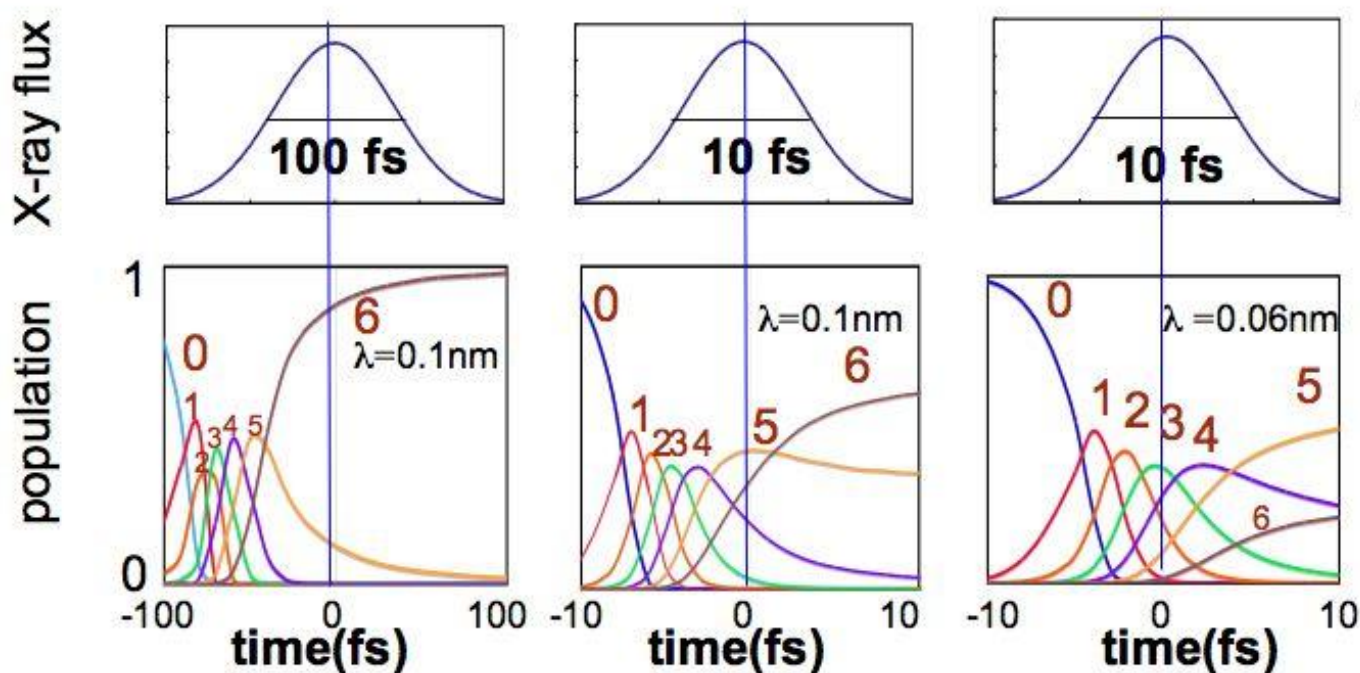


図 3: 上段: X 線自由電子レーザー光の X 線フラックスの時間発展. 下段: X 線自由電子レーザー光の全 X 線フラックスが $10^{22}/\text{パルス}/\text{mm}^2$, 球状の標的の半径 10 nm のときの炭素原子のポピュレーションの時間発展. (a) $\tau = 100 \text{ fs}$, $\lambda = 0.1 \text{ nm}$, (b) $\tau = 10 \text{ fs}$, $\lambda = 0.1 \text{ nm}$, (c) $\tau = 10 \text{ fs}$, $\lambda = 0.06 \text{ nm}$ X 線フラックスのピークが標的に入ったとき時間 0 とした (文献 [7] の Fig.1 を使用).

のときX線吸収の断面積 [19] の0.03倍であり、寄与は小さいので無視されている [10, 16] が、 $\lambda = 0.06 \text{ nm}$ になると0.3倍となり、無視できなくなる。波長が短くなるにつれてコンプトン散乱の寄与は大きくなる。

3. 損傷とX線自由電子レーザーのパラメータとの関係

X線自由電子レーザー光による生体高分子の損傷シミュレーションが始まった当初、波長 (λ)、パルス幅 (τ)、X線フラックス (F_x) のパラメータは1つの値のみ用いられていた。この当時、研究が始まったばかりで、どの過程が重要なのかよくわかっていなかった。そこで、各過程の研究を詳細に行い、重要な過程の解明が目指されていた。それには1つのパラメータで十分であったと考えられる。それに対して Moribayashi と Kai [12] は実験可能な条件を探し出すためには様々なパラ

メータの値と損傷との関係を明らかにすることが必要であると考えた。そこで、それらの様々な値に対して生体高分子の主要な原子である炭素原子の電離数ごとのポピュレーションの時間発展を計算した(図3と図4にこの文献 [12] の計算結果を示す)。この計算では生体高分子を球形と考え(球形に近い形の生体高分子ほど立体構造がわかっていないことが多い)、半径10 nmとされた。また、炭素原子の密度を $3 \times 10^{22} \text{ cm}^{-3}$ とされたが、この密度は生体高分子中の炭素原子の密度とほぼ同じである。さらに、X線自由電子レーザー光の強度の時間プロファイルはガウス型の時間の関数を使用した(図3の上段の図参照)。X線自由電子レーザーの発振のメカニズムは本シリーズ第1回の記事 [4] に委ねるが、現在、日本のX線自由電子レーザー(さくら)では、SASE (Self-Amplified Spontaneous Emission) 型と呼ばれている方式が使用されている。この方式

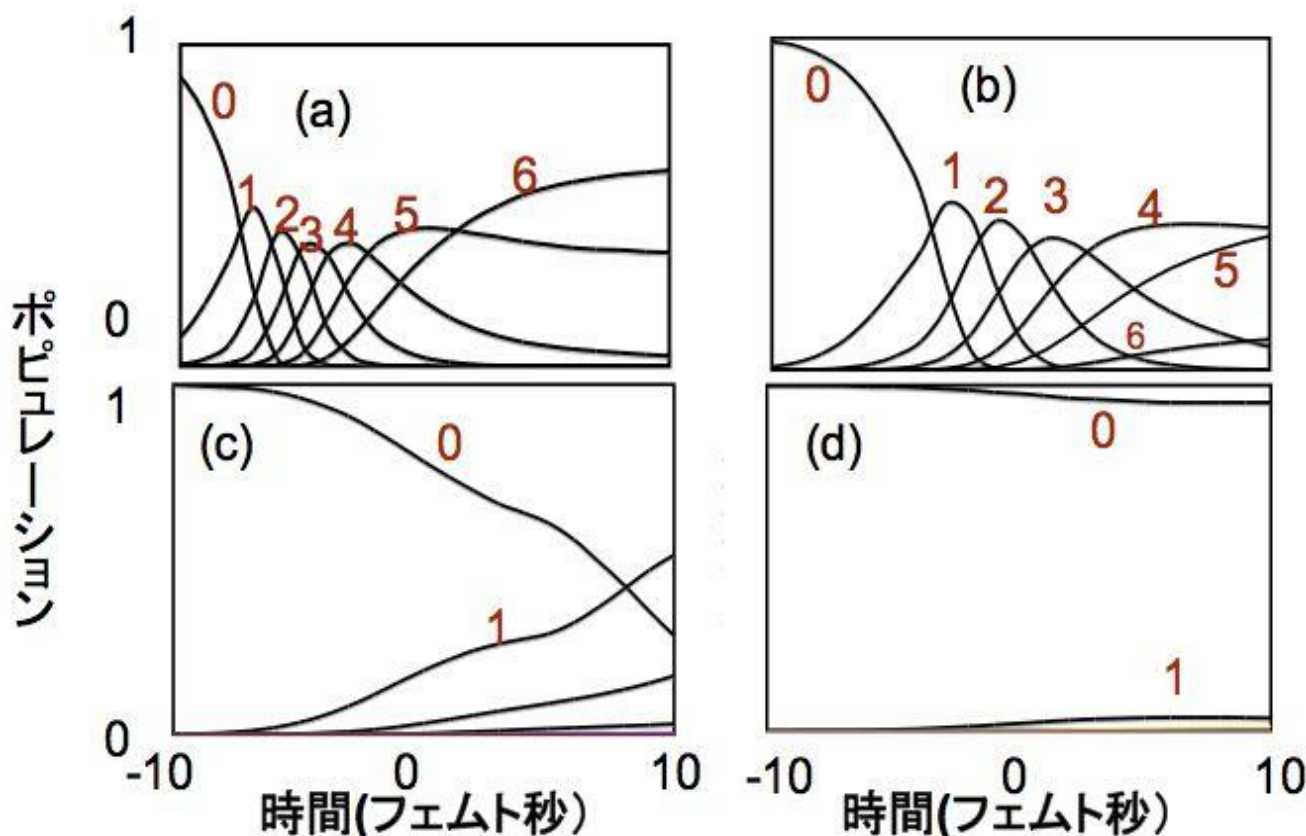


図4: X線フラックス値を変化させた場合の炭素原子のポピュレーションの時間発展の変化を示した図。X線フラックスは(a) 10^{22} /パルス/ mm^2 , (b) 10^{21} /パルス/ mm^2 , (c) 10^{20} /パルス/ mm^2 , (d) 10^{19} /パルス/ mm^2 . $\tau = 10 \text{ fs}$, $\lambda = 0.1 \text{ nm}$. X線自由電子レーザー光のX線フラックスの時間発展のプロファイルは図3と同じものを使用。

では強度の時間プロファイルはカオティックになっている。これは X 線自由電子レーザー光の発振に用いられる電子ビームの分布にばらつきがあるためである。このプロファイルを修正するためには分布にばらつきのない電子ビームを使用すれば良い。それを目指して電子ビームをコヒーレントの高い単一モードのレーザーで同期させることが考案されている [4]。この電子ビームを用いることによって X 線自由電子レーザー光の強度の時間プロファイルは、ここでの計算に用いたガウス型に近くなると考えられている(シーディング方式と呼ばれている)。日本の X 線自由電子レーザーでは将来、このシーディング方式を用いることが計画されている。

図 3(a)に日本の X 線自由電子レーザー開発の計画が始まった頃に予定されていたパラメータ値、すなわち $F_x = 10^{22}$ /パルス/mm², $\tau = 100$ fs, $\lambda = 0.1$ nm が用いられていた場合の計算結果を示した。この図から X 線強度の最大値が生体高分子に届く前に炭素原子は電子を持たない裸のイオンになることがわかる。回折像での計測は序論で述べたように原子に束縛されている電子によって弾性散乱した X 線の数に依存するので原子が電子を持たない裸のイオンになると計測できなくなる。パルス幅を 10 fs と短くすると X 線強度の最大値が届いたとき数個の電子が原子に束縛されており(図 3(b)参照)、測定可能となることがわかる。図 3(a)と(b)の相違ができる理由はオージェ過程の時間スケールが 10 fs 程度であるためである。すなわち、 $\tau = 10$ fs では X 線吸収とオージェ過程が 1 回程度しか起こらないのに対して、 $\tau = 100$ fs になると数回起こることが可能となり、電離が多く起こることが予測できる。また、オージェ電子による電子衝突電離も $\tau = 100$ fs では頻繁に起こり、これが電離を促進させることも予測できる。さらに、 λ を 0.06 nm と短くすると、原子に束縛されている電子の数がさらに増えている(図 3(c)参照)。これは、X 線吸収断面積(σ_x)の波長依存性がおおよそ $\sigma_x \propto \lambda^3$ [19] となっており、波長が短くなると X 線吸収、すなわち、原子の電離過程が起きる割合の減少が原因であると考えられる。この束縛された電子数の増加により、散乱された X 線の数、すなわち、回折像に届く X

線数も増えることが予測できる。これらの結果などにより日本の X 線自由電子レーザー光のパルス幅の予定値が 100 fs から 30 fs に修正された。

図 4 に様々な F_x の値に対するポピュレーションの時間発展の計算結果を示した。図 4 (a - d) での F_x の値はそれぞれ、(a) 10^{22} /パルス/mm², (b) 10^{21} /パルス/mm², (c) 10^{20} /パルス/mm², (d) 10^{19} /パルス/mm² である。ここでは、 $\tau = 10$ fs, $\lambda = 0.1$ nm, 生体高分子の半径 10 nm のパラメータが用いられている。これらの図から F_x が一桁小さくなると電離する数が激減することがわかる。これは X 線吸収電離過程のレート係数(この過程が起こる典型的な時間を表す量)が F_x に比例するため [8], すなわち、 F_x が X 線吸収電離過程の起こる時間スケールに相当するためである。 F_x が 10^{20} /パルス/mm² 以下になると X 線パルスが通過した後もかなりの数の中性原子が残っており、損傷の立場からは、この程度の X 線フラックスが望ましい。

4. おわりに

X 線自由電子レーザー光による生体高分子の立体構造解明での研究において実験可能な条件を導きだすためには損傷のシミュレーションが不可欠であり、このシミュレーションにおいて原子分子物理が重要な役割を演じることを示した。この実験が始まると X 線や光電子、オージェ電子などのスペクトル測定も同時に行われることが予測できるが [8, 11], そのときも原子分子物理が重要な役割を演じると考えている。

謝辞

本レビューでは文献 [12] の図を使用した、使用許可をいただいた IOP の出版社の編集委員に感謝したいと思います。このようなレビューを執筆できたのは「X 線自由電子レーザー利用推進課題研究」(文部科学省)のサポートの基で研究を遂行できたおかげであり、このサポートをしていただいた文部科学省に感謝したいと思います。また、研究を遂行している間に有用な議論をしていただいた郷信広教授、甲斐健師博士、福田佑仁博士、河野秀俊博士、徳久淳師博士、James Koga 博士、山極満博士、さらに日本の X

線自由電子レーザー(さくら)の開発チームのメンバーに感謝したいと思います。

参考文献

- [1] 早稲田嘉夫, 松原英一郎, 「X 線構造解析 原子の配列を求める」 堂山昌男, 小川恵一, 北田正弘監修, 内田老鶴圃出版 (1998).
- [2] 田中勲「構造生物学とその解析法」第 1 章, 京極好正, 月原富武編集, 共立出版株式会社出版 (1997) .
- [3] R. Neutze, R. Wouts, D. Spoel, E. Weckert, and J. Hajdu, *Nature*, **406**, 752 (2000).
- [4] 永園充, 田中隆次, 矢橋牧名, 田中均, 石川哲也, 「シリーズ 短波長自由電子レーザーによる原子分子光物理」第 1 回, 原子衝突学会誌「しょうとつ」第 8 巻 6 号(2011)
(http://www.atomiccollision.jp/infomation/infomation02_2.html)
- [5] S.P.Hau-Riege, R.London, H.N. Chapman, A. Szoke, and N. Timneanu, *Phys. Rev. Lett.*, **98**, 198302 (2007).
- [6] Z.Jurek, G.Faigel, and M.Tegze, 2004 *Eur. Phys. J. D*, **29**, 217 (2004).
- [7] Z. Jurek and G. Faigel, *Eur. Phys. J. D*, **50**, 35 (2008).
- [8] K. Moribayashi, *Phys. Rev.A*, **80** 025403 (2009).
- [9] K.Moribaayshi, *J. Phys.B*, **43**, 165602 (2010).
- [10] S.P. Hau-Riege, R. London, and A. Szoke, *Phys.Rev.E*, **69**, 051906 (2004).
- [11] K. Moribayashi, *J. Phys. B*, **41** 085602 (2008).
- [12] K. Moribayashi and T. Kai, *J. Phys.: Conf. Ser.*, **163**, 012097 (2009).
- [13] T. Kai and K. Moribayashi, *J.Phys: Conf. Ser.*, **163**, 012035 (2009).
- [14] T. Kai, *Phys. Rev. A*, **81**, 023201 (2010).
- [15] B. Ziaja, A.R. B. de Castro, E. Weckert, and T. Möller, *Eur. Phys. J. D*, **40**, 465 (2006).
- [16] T.Nakamura, Y.Fukuda, and Y.Kishimoto, *Phys. Rev. A*, **80**, 053202 (2009).
- [17] V.O.Klein and Y. Nishina, *Z. Phys.* **52**, 853 (1929).
- [18] G.R. Blumenthal and R.J. Gould, *Rev.Mod.Phys.* **42**, 237 (1970).
- [19] B.L. Henke, E.M. Gullikson, and J.C.Davis, *Atomic data & Nuc. Data Tables* **54**, 181 (1993).