

「X線信号のヘテロダイン検出を提案。
X線FELはタンパク質1分子の構造解析を可
能とするだろうか。」

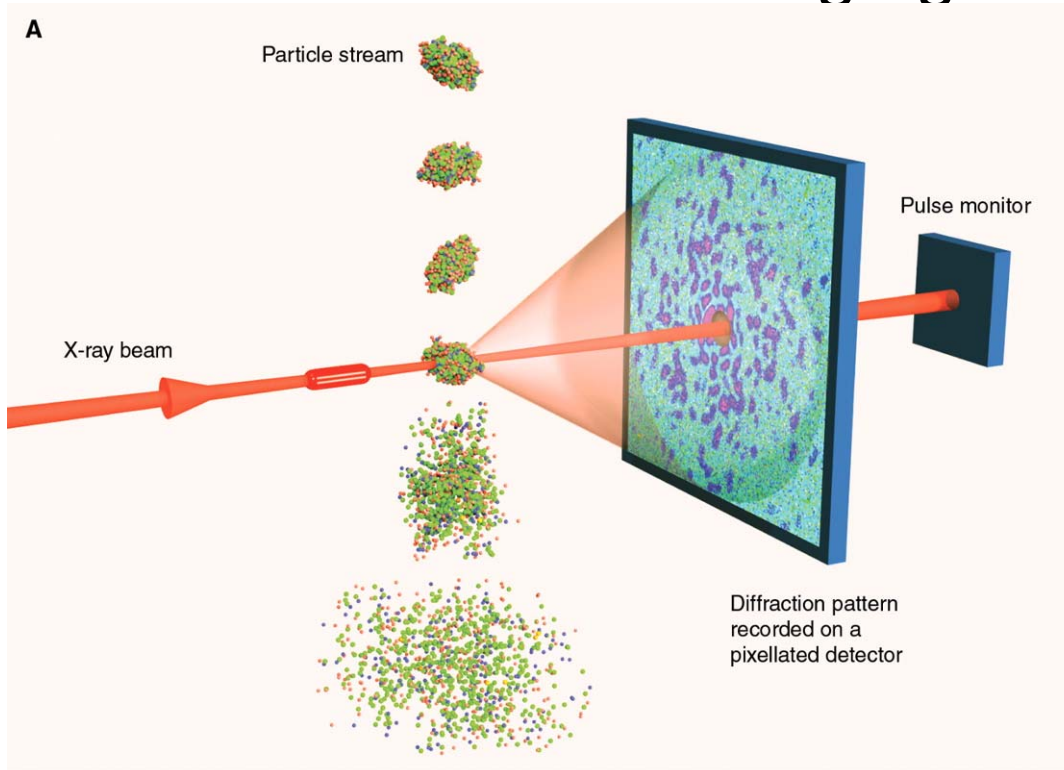
新竹 積

理化学研究所、放射光科学研究センター
(SPring-8)

お話の流れ

- 電子顕微鏡とX線顕微鏡、X線散乱顕微鏡
 - 位相回復
 - なぜ金粒子を
 - 今後の展開
-
- SPring-8でのX線FEL建設の概要
 - タンパク質結晶構造解析の重要性

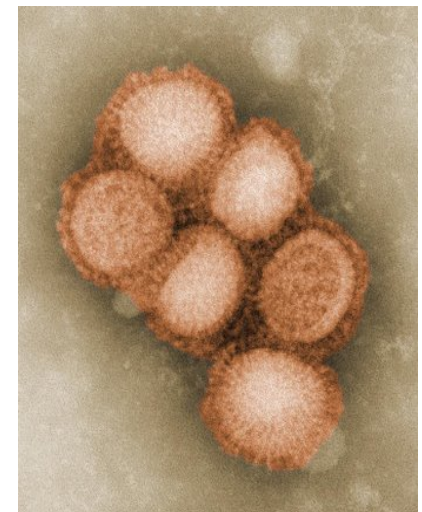
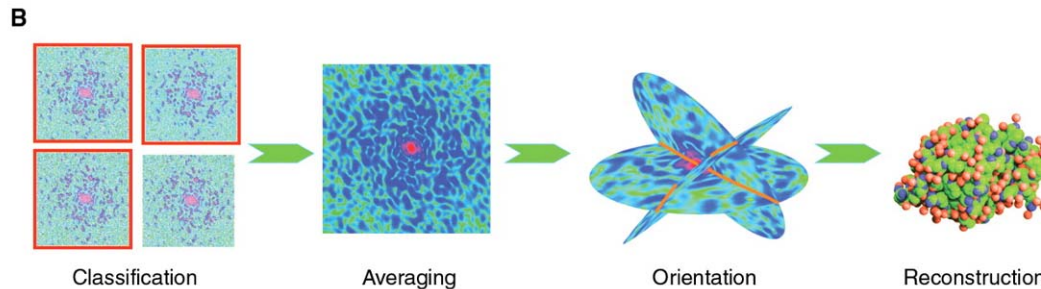
生体分子の構造解析 (Single Biomolecule Imaging)



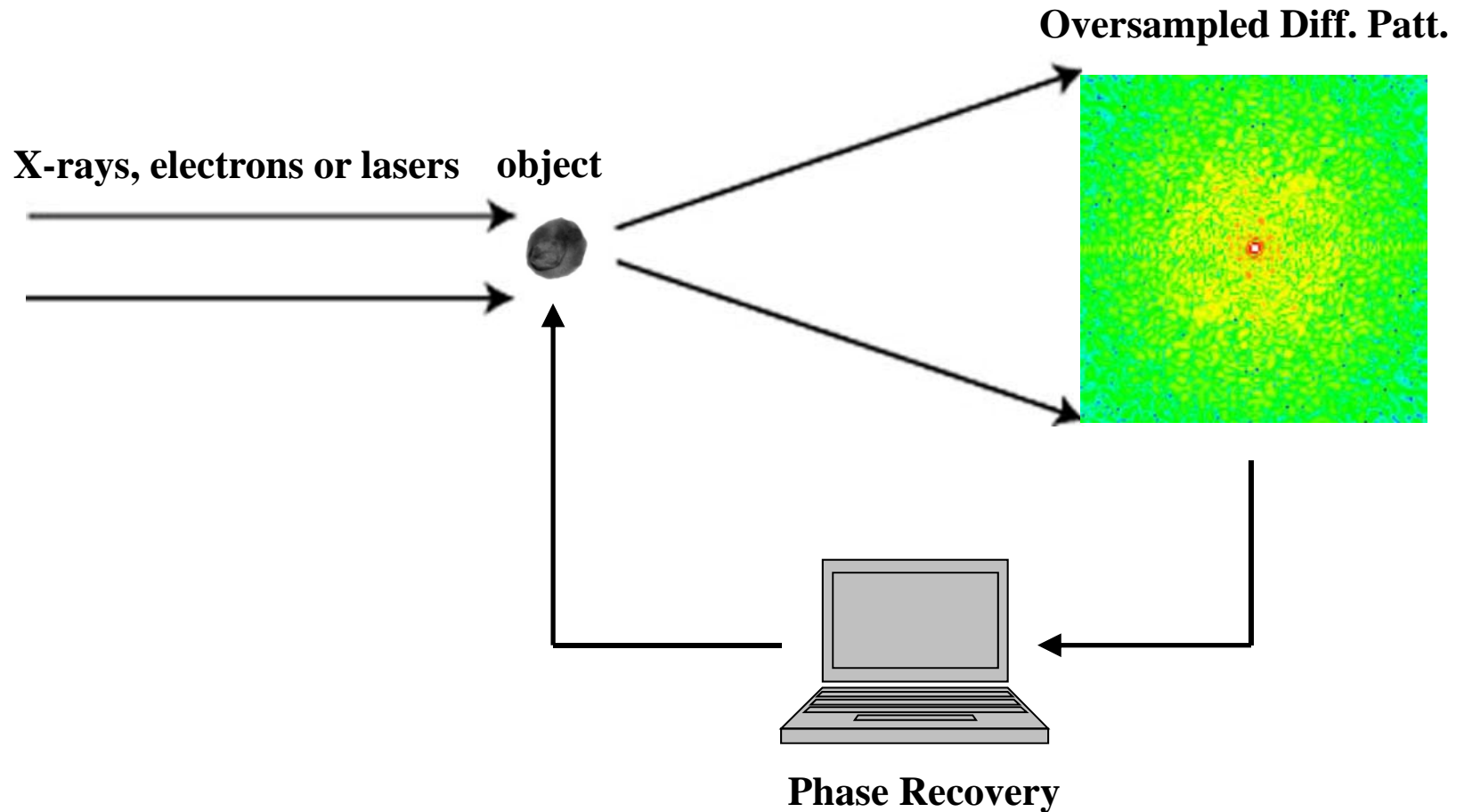
XFELを使えば、生体分子(たんぱく質)の、1分子構造解析が可能になる。

結晶化が困難なタンパクの構造解析が可能となれば、生命科学に飛躍的な貢献をする。

最近話題のインフルエンザウイルスも、3次元の内部構造が原子分解能で容易に決定できるようになるだろう。



Coherent Diffraction Microscopy (or Lensless Imaging)

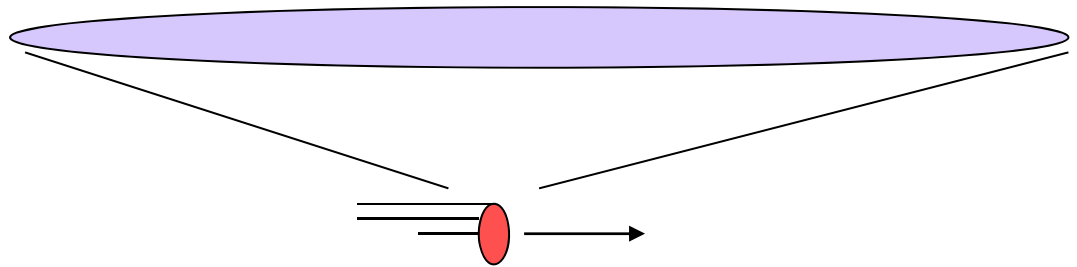


電子顕微鏡とコヒーレントX線顕微鏡

電子顕微鏡	X線FELを用いた コヒーレントX線顕微鏡
<p>実現されている解像度: $\sim 1 \text{ \AA}$ 以下</p> <p>ドブロイ波長は、0.1 \AA 以下であるが、集束レンズの収差が実用限界を決定</p>	<p>予想解像度: $\sim 1 \text{ \AA}$</p> <p>X線波長が1 \AAであり、回折限界 (原理限界)</p>
<p>動作媒体の電子が電荷を持つ</p> <p>微小スポットに集められる電子数が制限され、1秒以上の露光が必要であり、超安定電源、防振必須</p>	<p>光子はボーズ粒子</p> <p>高密度、極短パルスが可能</p> <p>フェムト秒のフラッシュ</p> <p>防振は不必要</p>
<p>ソフトマテリアル、生体物質に不向き</p> <p>電子衝撃で変形</p>	<p>ソフトマテリアル、生体物質に適す</p> <p>X線照射にて、爆発するまえにフラッシュ撮影が完了する</p>

極短パルスが得られる理由

- 高エネルギー電子ビームを使用(放射光のため)
- 8GeVの電子系にて長さ 30 cmの電子雲は、地上系ではローレンツ圧縮されて、約 $20 \mu\text{m}$ (100 fsec) に見える。



- 電子系にて 30 cm (1 nC)の電子バンチは、クーロン反発が弱く実現が容易。

X線回折、Bragg Diffraction

電子顕微鏡

- 解像度が磁場レンズの収差で限界

D. Gavor 1948

レンズを使わない

- ドブroy波の干渉縞記録
- 可視光にて拡大、再生

- **ホログラフィー技術**
- 可視光レーザーの干渉縞を記録

1A以下を達成

- Quad, Sextapoleレンズの導入し非線形項の消去(イメージ合成)
- Energy Filterの導入

X線結晶構造解析

X線顕微鏡

- 放射光の発達(輝度)
- フレネルレンズ光学系

- X線波長での固体(SiN)の屈折率が非常に小さい
- レンズ焦点距離が長い
- 分解能 数10 nmどまり

レンズを使わない

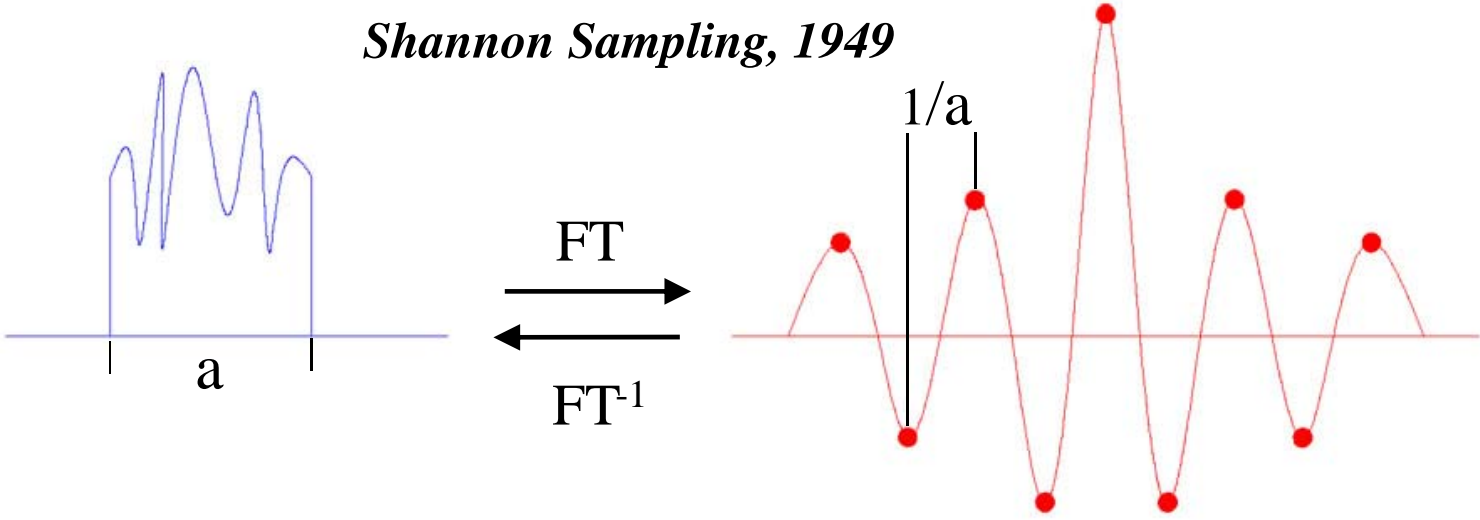
X線散乱顕微鏡

1952 Sayre

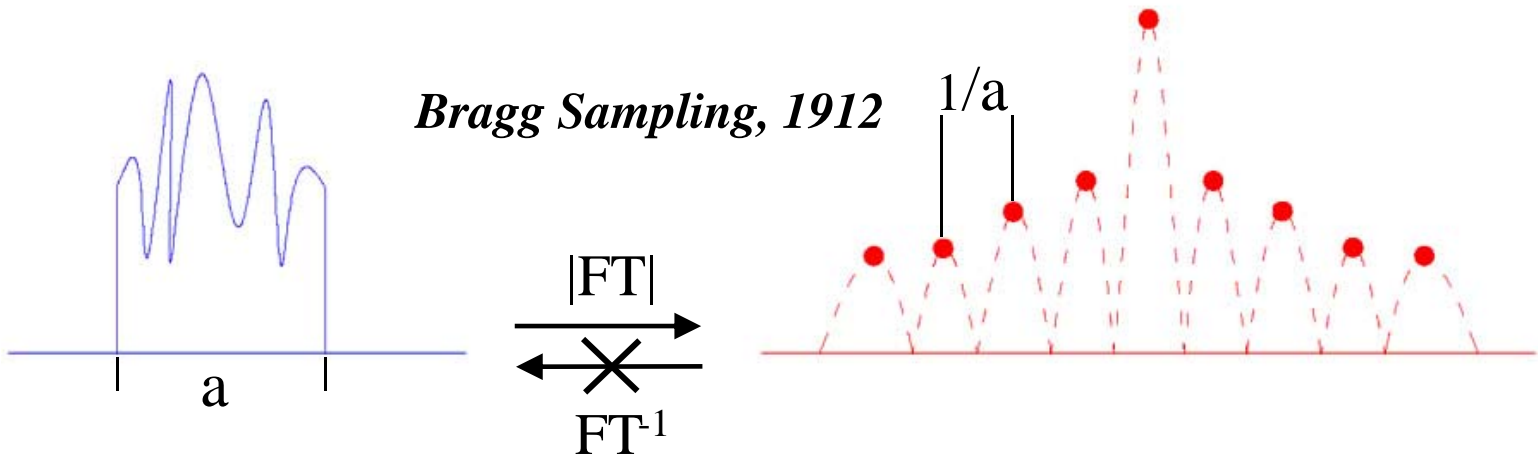
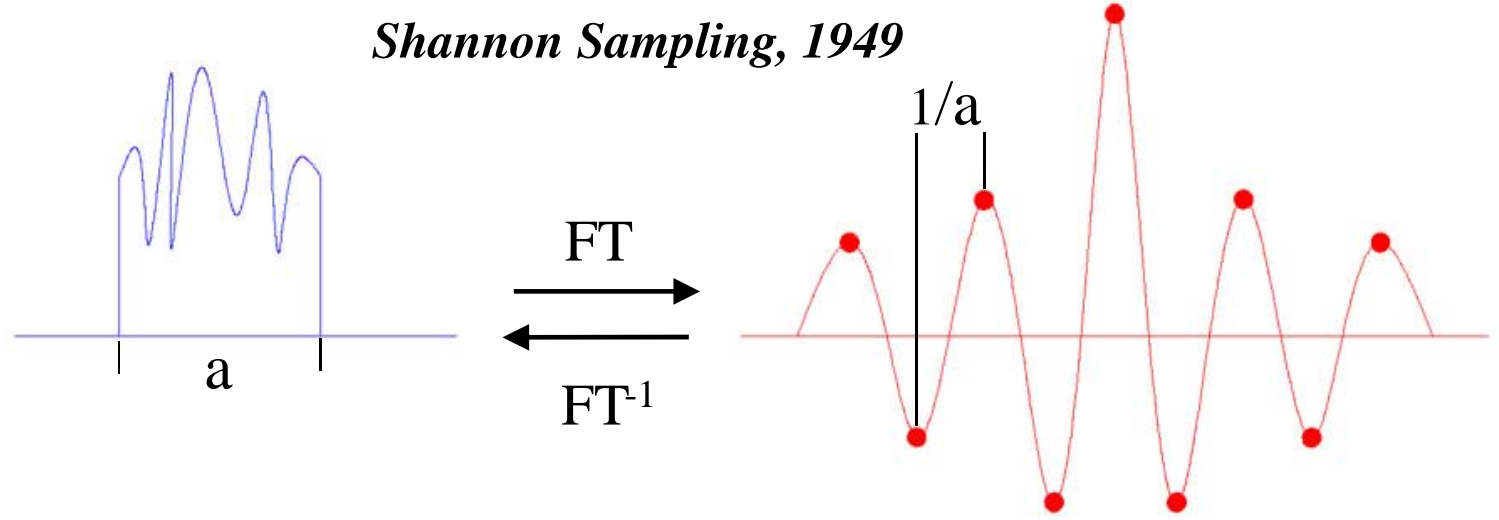
A Brief Early History of the Oversampling Method

- 1952** **Sayre, *Acta Cryst.* 5, 843.**
Suggested that measuring the intensity at as well as between the Bragg peaks may provide the phase information.
- 1978** **Fienup, *Opt. Lett.* 3, 27.**
Developed an iterative algorithm for phase retrieval of diffraction intensity.
- 1982** **Bates, *Optik* 61, 247.**
Phases can be retrieved from the diffraction intensity if the intensity is oversampled at least twice in each dimension.
- 1998** **Miao, Sayre & Chapman, *JOSA A* 15, 1662.**
Showed that Bates' criterion is overly restrictive and proposed a different explanation to the oversampling method.
- 1999** **Miao, Charalambous, Kirz & Sayre, *Nature* 400, 342.**
First experimental demonstration of the oversampling method and X-ray crystallography without crystals.

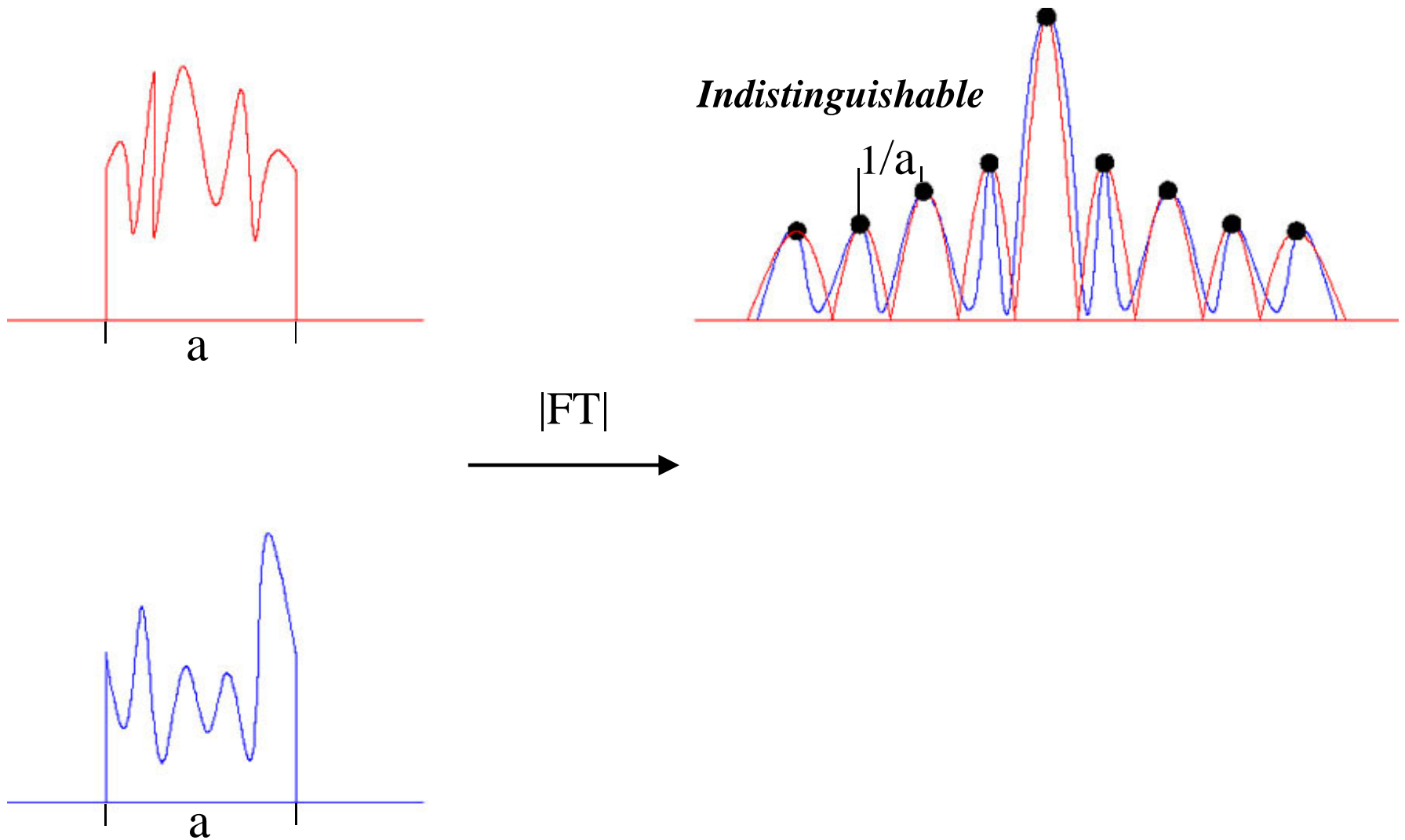
Shannon Sampling vs. Bragg Sampling



Shannon Sampling vs. Bragg Sampling



Bragg Sampling vs. Oversampling

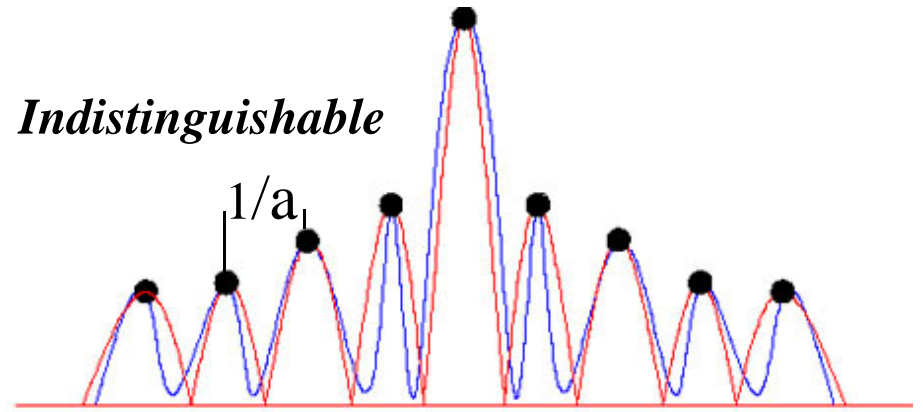
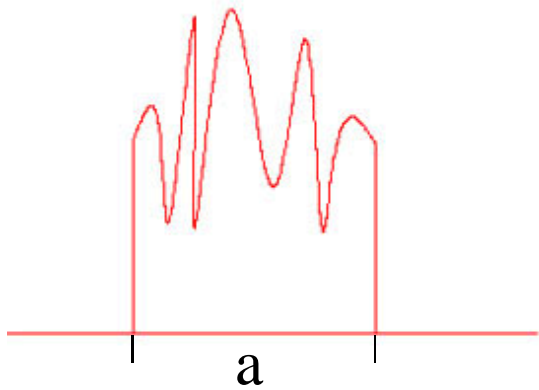


1952

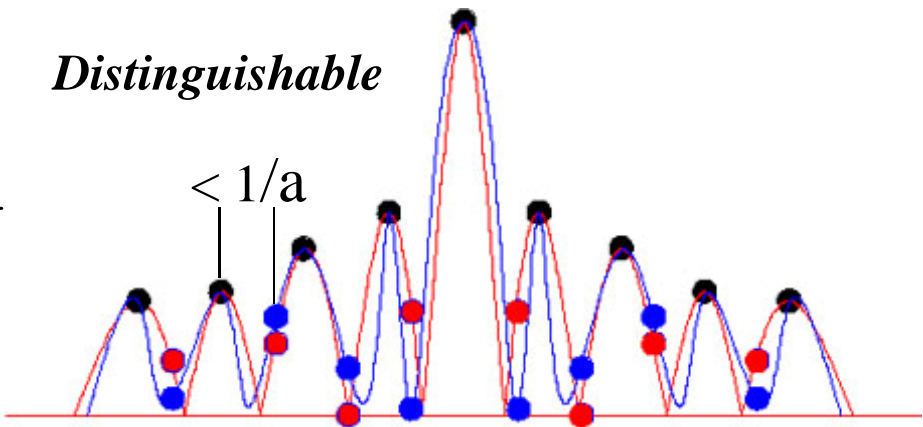
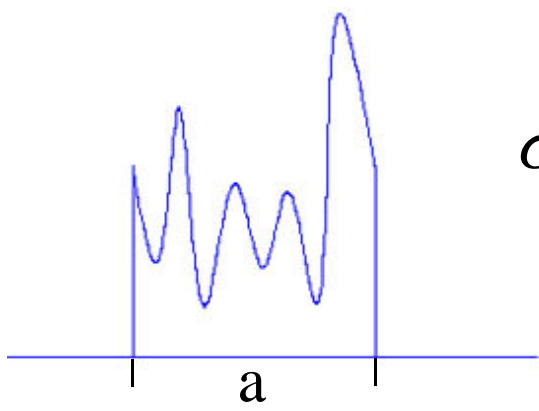
Sayre, *Acta Cryst.* 5, 843.

From Miao 2008

Bragg Sampling vs. Oversampling



$|FT|$
 \longrightarrow



$$\sigma_i = \frac{f_i^O}{f_i^S}$$

$i = x, y, z$

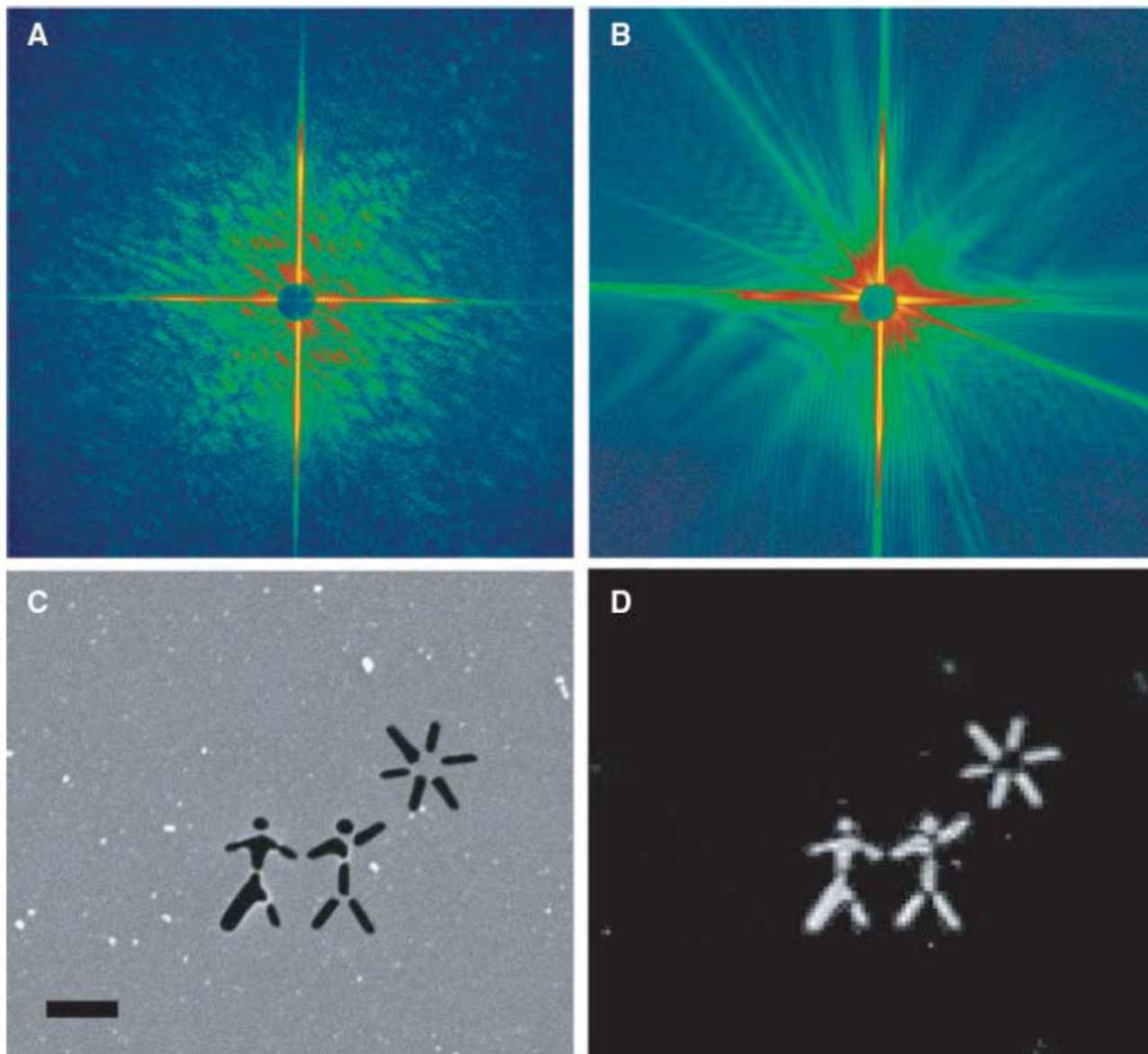
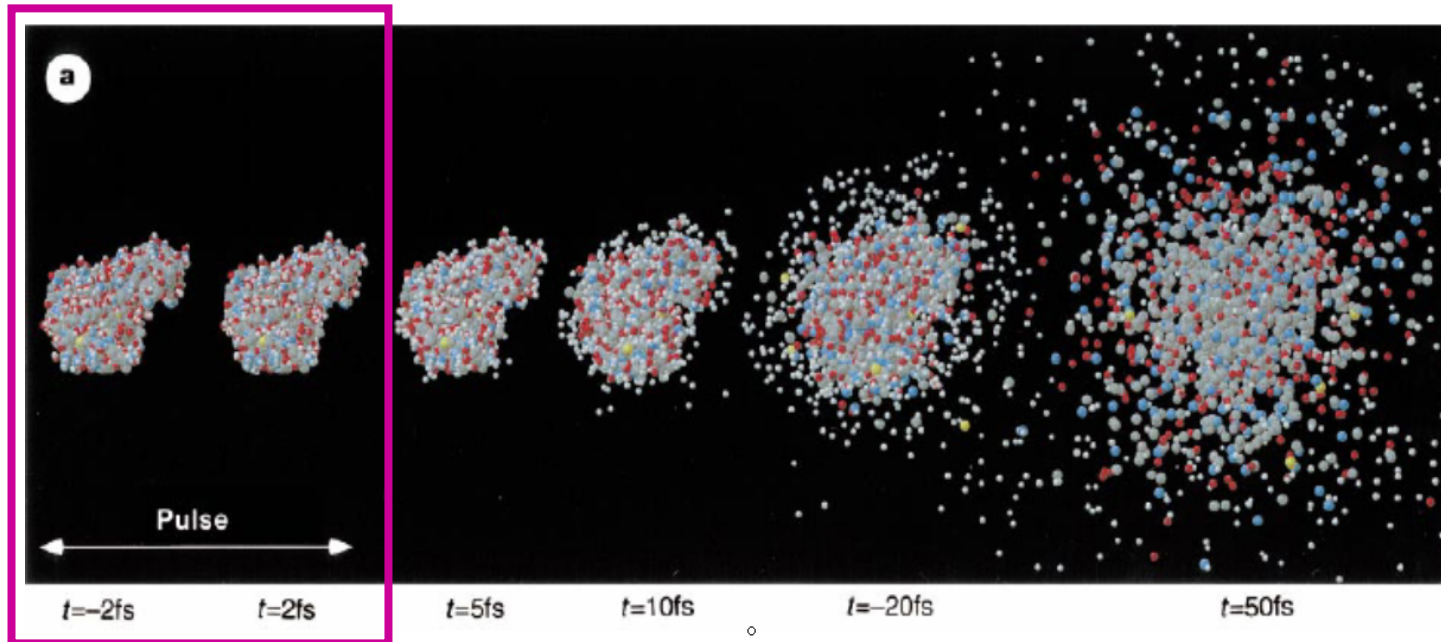


Fig. 3. (A) Diffraction pattern recorded with a single FEL pulse from a test object placed in the 20- μm focus of the beam (δ). (B) The diffraction pattern recorded with a second FEL pulse selected with a fast shutter, showing diffraction from the hole in the sample created by the first pulse. (C) Scanning electron microscope image of the test object, which was fabricated by ion-beam milling a 20-nm-thick silicon nitride membrane. The scale bar denotes 1 μm . (D) The image reconstructed from the single-shot diffraction pattern shown in (A).

大問題が発生

- XFEL光がタンパク分子をイオン化し、分子は爆発する。
- しかし、FEL光が10 フェムト秒以下に出来れば、爆発以前のイメージが撮影できる。
- 最近、LCLSにおいて、10フェムト秒以下のパルスが実現されている。



5フェムト秒パルス

XFEL下のリゾチーム分子の爆発(シミュレーション)

10フェムト秒 = 光の速さで $3\ \mu\text{m}$ = 10 GeVの電子系で見ると、まだ60 mmと長く、
加速器の電子バンチ内の空間電荷による反発は小さく、容易に実現できる。ただしモニタが問

CCDに来る光子の数が少ない

- 非常に良い条件でも、30 kDの中程度の大きさのタンパク質1分子でも、散乱光子の数は2000個程度。
- 1000 x 1000 pixelのCCDで見ると、平均の光子数は $1/1000 = 0.001$ 個しかない。これはランダムなノイズにしか見えない。
- 多数の実験データを平均化する手法が提案されているが、方向が定まらない。
- そこで、金粒子をつけて、増幅する。
T. Shintake, PR-E78, 041906 (2008)