



小角散乱でどこまで大きいものが見えるか ～SPring-8 における極小角散乱測定の実況～

井上勝晶 助高輝度光科学研究センター利用研究促進部門 〒679-5198 兵庫県佐用郡佐用町光都 1-1-1
八木直人 助高輝度光科学研究センター利用研究促進部門 〒679-5198 兵庫県佐用郡佐用町光都 1-1-1

要旨 ここ数年極小角散乱測定の実施を希望するユーザーが増加する傾向にある。大型放射光施設 SPring-8 でもより高い小角分解能で測定が可能になるよう、ビームラインの性能向上および高度化を試みてきた。その結果数 μm から数 \AA にわたるひろい大きさの領域での構造解析が可能になった。SPring-8 における極小角散乱測定の実況を紹介する。

1. はじめに

X 線小角散乱法 (Small-Angle X-ray Scattering, SAXS) は数 nm から数 μm といったいわゆる“コロイド”領域の大きさを持つ分散粒子あるいは電子密度の揺らぎについて散乱強度分布からその構造をとらえる手法である。多くの読者がよくご存知のとおり、散乱現象は実空間 (実際に物体が存在する空間) と逆空間 (散乱の空間) との間のフーリエ変換で記述することができる。この原理に基づき、粒子の大きさと散乱角の間には“相反”の関係があり大きな粒子からの散乱は小さな角度領域に観測され、小さな粒子からの散乱はより大きな角度領域に観測される。実際の測定の現場では、一般的に“X 線小角散乱測定”という言葉が示すのは散乱角にしておそらく数度、大きく見積もっても 10° までの角度領域に起こる散乱を観測する手法であるといえる。この角度領域は実空間の大きさに言い換えると、数 \AA より大きな構造領域を観測していることに相当する。つまり原理的に小角散乱法は、原子レベルよりは“ちょっと”大きな構造から、見ようと思えばたとえば細胞といった大きな構造体まで観測できる手法であるといえる。さらに付け加えるならば、試料の状態には大きな制約はなく、また試料を取り巻く条件も多種多様に変えることができ、さまざまな条件のさまざまな試料について測定可能なたいへん便利な手法ともいえる。

近年 X 線小角散乱法によって構造解析を試みる研究者が増加する傾向にあり、その多くは“広い角度領域”での測定を希望される。この場合“広い角度領域”とは文字通り広角領域の測定を行うということを意味するだけでなく、これまで観測が困難であったより小さな角度領域までの測定をも意味し、このことはとりもなおさず多くの研究者がひとつのサンプルについてより大きな構造情報から小さな構造情報まで得ようとしていることを示している。X

線小角散乱測定で“非常に小さな角度領域”を観測するためには、これまでの長い歴史の中で Kratky 型光学系¹⁾や Bonse-Hart 型光学系²⁾が開発され利用されてきた。しかしこれらの光学系はセットアップがややこしく測定時間の短縮が困難であること、一次元もしくは零次元の検出器との組み合わせが必然であることなどから、必ずしも誰もがアクセスしやすいというわけではなく、時間的に効率よく質のよいデータが収集できるという面でも難があるといわざるを得ない。実際に光学系のセットアップおよび測定をする研究者にとっては、二次元検出器と組み合わせることができ、かつなるべく効率よく光学調整のできる光学系が望ましい。つまり通常放射光施設の小角散乱用ビームラインで見られるような測定用セットアップで、できるだけ小さな角度領域まで測定できることがもっとも単純な解決策であると考えられる。言い換えればこれまで放射光施設で開発使用されてきた小角散乱ビームラインの“小角分解能”を向上させるよう光学系を検討すればよいということになる。このとき測定原理から考えると具体的には、

- 1) より長い波長 (より低いエネルギー) の X 線を使う。
- 2) 試料—検出器間の距離 (カメラ長) をより長いものにする。
- 3) 寄生散乱を効率的に除去できるよう光学系を整備する。

という対処法も挙げられる。いずれの方策も光源やビームライン自体の仕様および構造上の問題や、物理的なスペースの問題により制約を受けるが、大掛かりな新規装置の導入等は必要なく、比較的金も時間もかけずに実施できる。実際 SPring-8 では上記三つの条件を連携させることにより BL40B2 と BL20XU で、これまでなかなか到達で

きなかった高い小角分解能を達成し、いわゆる“極小角散乱 (Ultra Small-Angle X-ray Scattering, USAXS)”といわれる領域の測定が定常的に行われるようになってきている。原理的なことは他の筆者に譲ることとし、実際に実施されている小角散乱測定について、現状でどのような光学系を構築しどのようなデータが得られるのか、つまり“どこまで大きな構造が観測できるか”ということに的を絞って紹介する。

2. SPring-8 における測定の実際

2.1 SPring-8 の小角散乱測定用ビームライン

現状で SPring-8 には48本のビームラインが稼動しており、このうち小角散乱測定が定常的に実施できるビームラインは BL40B2, BL40XU, BL45XU の3本である。BL40XU, BL45XU に関する具体的な記述は割愛するが、これらの3本はそれぞれ異なった仕様であり利用目的も非常に異なる。このほかに小角散乱測定用ビームラインではないが、BL20XU でもビームラインの構造的特性を活かしていわゆる“極小角散乱”に限った測定が行われている。本稿では SPring-8 における極小角散乱測定の実況に焦点を絞るため、BL40B2 と BL20XU の2本のビームラインについて述べる。

2.2 BL40B2 における小角散乱測定

BL40B2 は小角散乱実験および蛋白質結晶解析実験を行う構造生物学ビームライン II として立ち上げられた³⁾。当初はビームタイムを結晶構造解析とシェアしていたが、2005年よりすべてのビームタイムが小角散乱測定に供されている。Fig. 1 にビームラインの概念図を示す。光源から約35 m の位置に SPring-8 標準型二結晶分光器、約41 m の位置にシリンダー型ミラーが設置されている。また分光器の上流に水冷式第一スリット、ミラーの上流に第二スリットが設置されている。光源である偏向電磁石で発生する放射光は、水冷式第一スリットで高さおよびサイズを調整され SPring-8 標準二結晶分光器により単色化される。分光器では実験に使用する波長領域 (0.69~1.65 Å,

X線のエネルギー領域では7.5~18 keV に相当する) を考慮して Si(111)面を用いている。単色化されたX線は、スリットで整形された後、石英を母材としロジウムコートされた1 mのシリンダー型ミラーにより集光され (集光比約1:2)、実験ハッチに導入される。光学コンポーネントの真空は実験ハッチの最上流部のカプトン窓で分離される構造になっている。Fig. 2 に実験ハッチ内の様子を示す。上流部、カプトン窓の直下には検出器と連動したシャッターおよび寄生散乱除去用の四象限スリットが二組設置されている (Fig. 2a)。これらは常設でビームと平行方向に移動させることなく使用される。Fig. 2b はカメラ長3 mのセットアップを示している。写真の右側が下流側であ

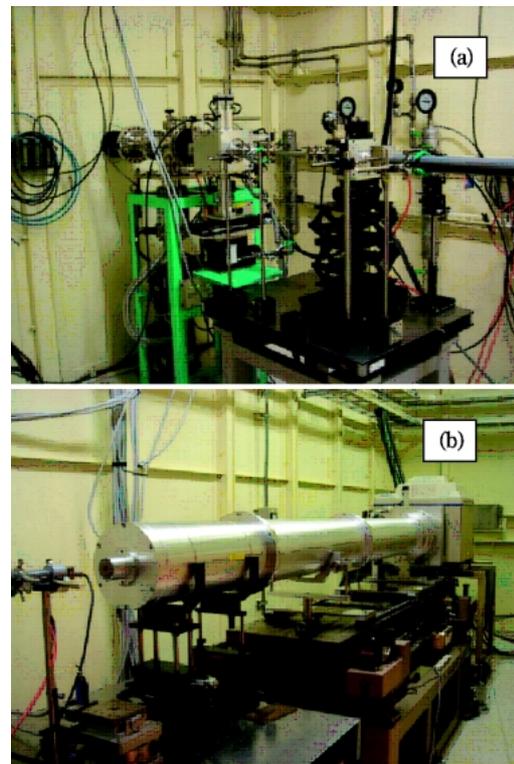


Fig. 2 In the experimental hutch. (a) a Kapton window, a shutter box and a slit. (b) Vacuum path for SAXS experiments (3.5 m).

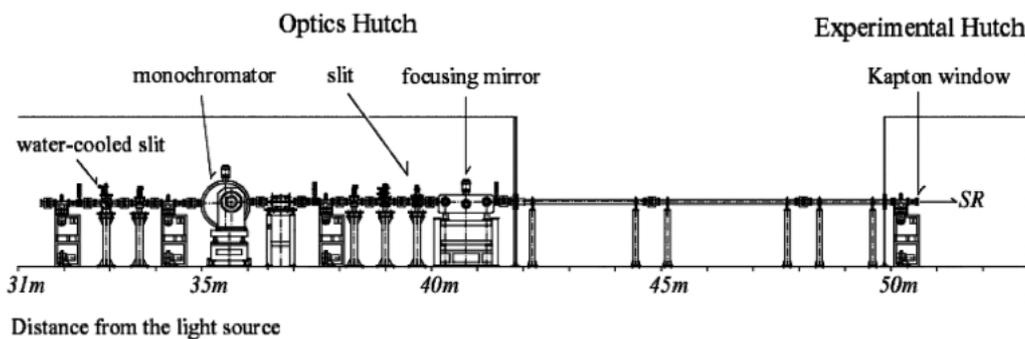


Fig. 1 Schematic illustration of BL40B2.

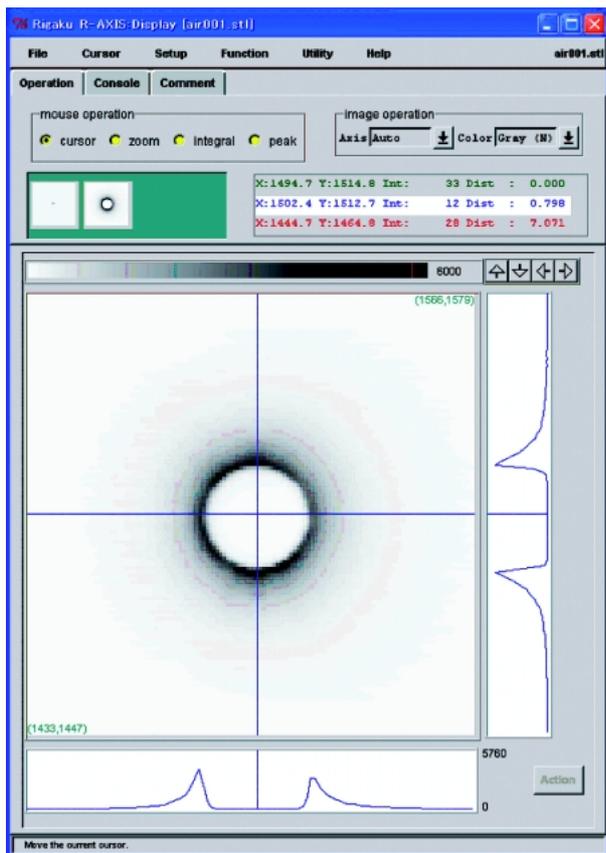


Fig. 3 Scattering from air, 30 s exposure, recorded with the image plate detector (RIGAKU R-Axis IV⁺⁺).

り、最下流から検出器、真空パス、サンプルステージ、ガードスリットと配置されている。ガードスリットと上流スリットの間は入射 X 線の減衰を避けるため塩ビパイプが設置され、実験中は He ガスが流されている。ガードスリットは円形で X-Z ステージに設置されている。このガードスリットに関してはかなりの時間をスタディに費やして大きさおよび形状を決定した。実験ハッチに導入される X 線は光源の特性もあり水平方向に長い形をしているが、円形のビームストップと組み合わせて使うことにより寄生散乱を非常にきれいに取り除くことができる (Fig. 3)。通常は直径約 1 mm のものを使っているが、セットアップによっては 0.8 mm や 0.6 mm とした径の小さなものと交換して使用する。また可動軸が 2 軸であるため四象限スリットを使うときより時間的に効率のよい光学調整を可能にしている。真空パスは 25 cm, 50 cm, 1 m の長さのパイプを組み合わせることにより 40cm から 4m までの間で比較的自由に長さの変更が可能であり、使用する X 線の波長 (0.69 Å ~ 1.65 Å で連続的に可変) をうまく組み合わせることにより、実験の目的に適した角度領域の測定を実現できる。検出器は RIGAKU 製 R-Axis VI⁺⁺ (イメージングプレート自動読み取り型)、浜松ホトニクス製イメージングインテンシファイア+CCD カメラ、イギリスダ

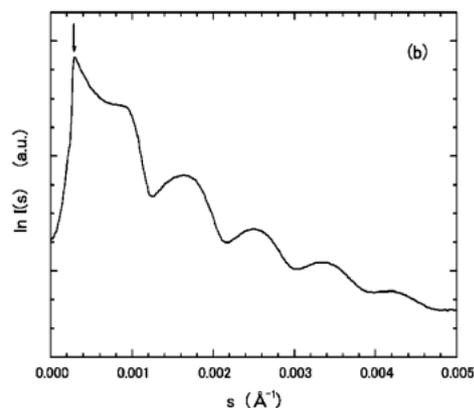
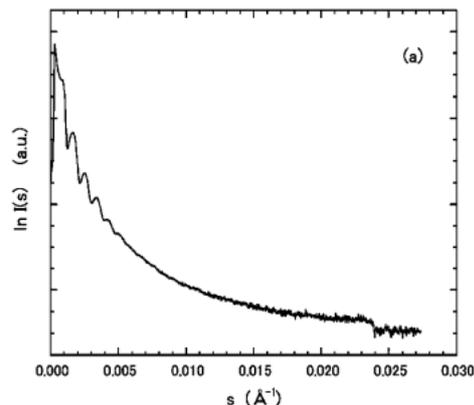


Fig. 4 Scattering from silica beads (Seahostar KE-P10), camera length: 3.5 m, wave length: 1.5 Å, 60 s exposure, recorded with RIGAKU R-Axis IV⁺⁺ and circular averaged. (a) whole s region, (b) small s region.

ラスベリー研究所製 RAPID (二次元ガス検出器) の三種類が用意されており、実験の目的に合わせて切り替えて使用する。

Fig. 3 以降に、波長 1.5 Å, 試料-検出器間距離 (カメラ長) 3.5 m, 検出器として R-Axis VI⁺⁺ を組み合わせたセットアップを用いた実際の測定例を示す。このセットアップは BL40B2 において現状で最も小角分解能が高い測定が可能なのである。Fig. 3 は空気散乱 (R-Axis 専用表示ソフトで中心付近のみを拡大表示してある) である。中央の白い丸い部分はダイレクトビームストップで直径は 3 mm である。ビームストップの周りの寄生散乱がきれいに除去できていることがわかる。カメラ長の校正には通常ニワトリコラーゲンを用いる。ニワトリコラーゲンに X 線を照射すると特徴的な回折パターンが観測される。この回折ピークは 653 Å の周期構造に由来することがよく知られており、この値を利用しカメラ長を正確に見積もることができる。

Fig. 4 にシリカビーズ (Seahostar KE-P10, 粒子径 0.08 ~ 0.14 μm) からの散乱を一次元化して示す。横軸は $s (=2 \sin \theta / \lambda)$ である。Fig. 4(a) は測定領域全体を、Fig. 4

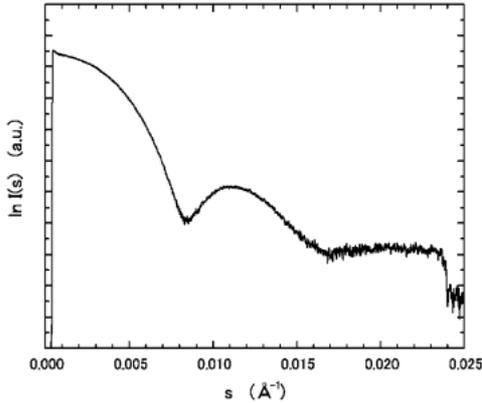


Fig. 5 Scattering from the protein solution (*E.coli* chaperonin GroEL, 10 mg/ml), camera length: 3.5 m, wave length: 1.5 Å, 240 s exposure, recorded with RIGAKU R-AXIS IV++ and circular averaged.

(b)は小角領域を拡大して示している。これらは典型的な球形粒子からの散乱パターンを示していることがわかる。また Fig. 4(b)中の下向き矢印はビームストップの縁にあたり、測定データとしてはこの矢印より広角側が使えることになる。この矢印の位置に相当する s の値から測定可能な小角分解能は3000 Å 程度であると見積もることができる。

Fig. 5 には蛋白質溶液の散乱測定例として大腸菌シャペロニン GroEL (分子量840 kDa) の散乱パターンを示す。このデータからも測定可能な小角分解能は約3000 Å と見積もられる。Fig. 4 に示すシリカビーズからの散乱は非常に強いものであるが、蛋白質溶液といった比較的散乱の弱い系でも高い小角分解能でかつ S/N のよい測定が可能である。さらに、観測される小角分解能はビームストップの大きさ、X線の波長およびカメラ長から計算される理論的な小角分解能とほぼ一致しており、ほぼ理想的な光学系が構築されていると考えられる。

Fig. 4 および Fig. 5 に示すような通常等方的な散乱が観測されるような試料については、解析の第一ステップとして二次元検出器上に記録された散乱を“円周積分”によって一次元化し、その後それぞれの解析の手順に進む。蛋白質溶液散乱実験に関して言えば、このデータから慣性半径および分子量を計算し、さらにモデリングから分子構造を推測するという作業を行う。また非等方的な散乱パターンを示すような試料(たとえば配向が強いようなもの)では、角度を区切って扇型に積分するなどそれぞれの工夫が必要となる。いずれにしても二次元検出器を用いることにより効率のよいかつ S/N のよい測定が可能となっている。

一方本稿の趣旨とは少し外れるが、カメラ長を短くし、より短い波長の X 線を用いるセットアップでは広角領域の測定も可能である。セットアップの詳細は割愛するが、最も広角が測定できる条件で $s = 0.5 \text{ \AA}^{-1}$ 程度の領域までの測定が可能である。この値は実空間の大きさで言うと 2 Å 程度に相当する。つまり測定条件を上手に組み合わせ

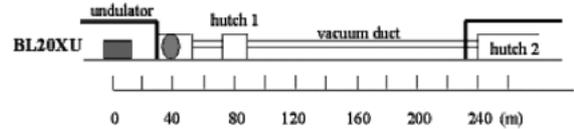


Fig. 6 Schematic illustration of BL20XU.

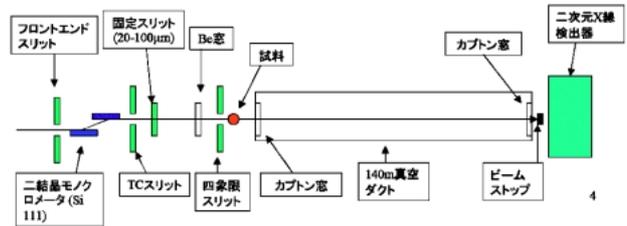


Fig. 7 Conceptual illustration of the experimental set up for USAXS at BL20XU.

れば、数 Å から3000 Å までの広い大きさの領域にわたり構造情報を得ることができる。

2.3 BL20XU における極小角散乱測定⁴⁾

前述したように、もともと BL20XU は小角散乱用ビームラインではなく、イメージング用に設計されたビームラインである。その特徴を一言でいうならば“長いビームライン”である。

Fig. 6 に BL20XU におけるハッチ配置の概念図を示す。光源から約40 m の位置に光学ハッチ、約80 m の位置に実験ハッチ 1、そして約250 m の位置に実験ハッチ 2 が配置されている。各ハッチの間は真空パイプで接続されている。すなわち、実験ハッチ 1 にサンプルを、実験ハッチ 2 に検出器をセットすれば必然的にカメラ長150 m 程度の小角散乱測定光学系ができあがることになる。

Fig. 7 に実験に用いられるセットアップの概念図を示す。BL20XU はアンジュレータを光源とするビームラインで、フロントエンドスリットで整形された放射光は光源から47 m 地点にある液体窒素冷却型分光器により単色化され実験に用いられる。このビームラインでは 8~37 keV のエネルギー領域の X 線が利用可能である。これは波長に換算すると 0.34 Å~1.5 Å に相当する。分光器のすぐ下流には正方形のアパチャー (100 μm 四方, 50 μm 四方, 20 μm 四方および10 μm 四方から選択可) が設置されている。このアパチャーを適当に選ぶことにより実験に適切な X 線の強度 (フラックス) を選ぶことができる。20 μm 四方のアパチャーを使った場合、実際に検出器上でのビームサイズは 1.2×1.2 mm 程度であり、そのとき波長 1 Å におけるフラックスは 1.0×10^{10} cps 程度になると見積もられている。実験ハッチ 1 の試料上流にはガードスリット (四象限スリット) が設置され寄生散乱を除去する。実験ハッチ 1 と実験ハッチ 2 をつなぐ真空パイプは内径約10 cm 程度であり、広角側の測定可能領域は 0.3 mrad に規定

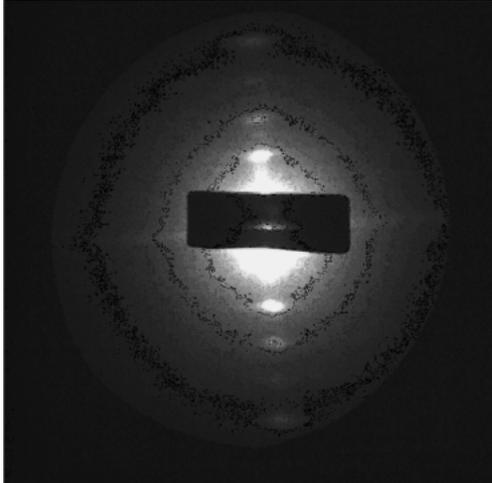


Fig. 8 Diffraction from frog skeletal muscle observed at BL20XU. Wave length: 1 Å, 10 s exposure, recorded with XII+CCD camera (Hamamatsu).

される。実験ハッチ2には鉛製の10 mm 幅の帯状のビームストップが設置され、この下流に検出器が置かれる。通常検出器には浜松ホトニクス製冷却 CCD カメラ (C4880-50-24A) が、同じく浜松ホトニクス製4 インチイメージインテンシファイア (V7339) と組み合わせて用いられている。

Fig. 8 に実際の測定例としてカエル骨格筋からの回折パターンを示す。測定には波長1 Å の X 線を使用し、分光器下流には20 μm 四方のアパチャーを入れた。図中に見られる回折スポットは筋肉中のサルコメアの周期構造に由来するもので、その周期長は2.2 μm である。この値からカメラ長は155 m であると見積もることができる。

Fig. 9 には粒径1.5 μm のシリカビーズの散乱パターンを示す。計算によって求められる散乱曲線とよく一致する散乱が観測されていることがわかる。

これら二つの測定例からわかるように、BL20XU では実空間の大きさでいうと数 μm という高い小角分解能を実現している。強いて欠点を挙げるならば、試料と検出器の間をつなぐ真空パイプの細さであろう。このため広角側の測定可能領域がかなり限定される。X 線の強度に関しては、静的測定には十分であるし動的測定も工夫次第で十分可能である。

3. 何を見るのか

これまで述べてきたように、SPring-8 においては二つのビームラインで高い小角分解能をもつ散乱測定が可能になった。二つのビームラインでそれぞれの実験をうまくデザインすれば、得られた散乱データはうまくつなぎ合わせることができ、数 Å から数 μm という広い大きさの領域にわたる構造解析が可能になる。ここで重要になるのはや

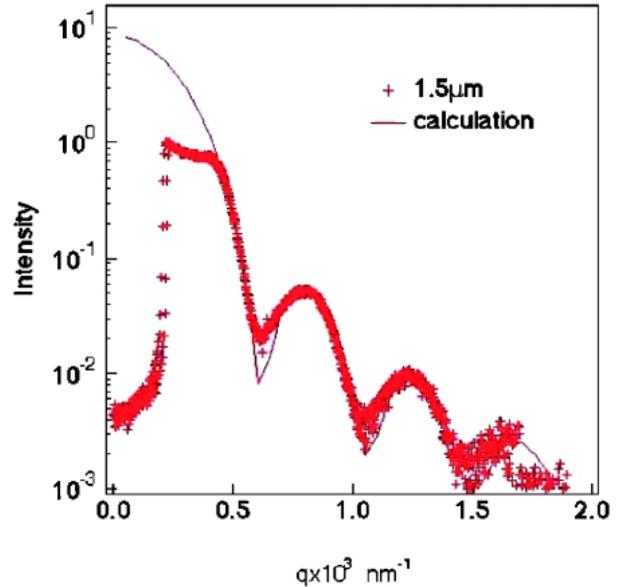


Fig. 9 Scattering from silica beads (Seahostar KE-P10) observed at BL20XU. Wave length: 1 Å, 1 s exposure, recorded with XII+CCD camera (Hamamatsu) and circular averaged.

はり何を見ようとしてどのような試料を持ってくるか、そしてどのような測定セットアップをデザインするかであろう。現実的に2005年あたりから、極小角散乱測定を希望するユーザーは増えてきている。また徐々にではあるが興味深い成果も得られている⁵⁾。今後さらに、生体物質や合成高分子など種類を問わずさまざまな試料に関する研究が極小角散乱測定を通してなされていくことを期待している。それと同時に、測定装置であるビームラインも、光学系の更なる性能向上やセットアップ変更の簡便化、解析ソフト等の充実など、さまざまな面で進歩していく必要があると考えている。ハード面とそれを利用するユーザーの双方の進歩が、ますますすばらしい研究の展開を支えていくと考えている。

これまで到達できなかった高い小角分解能を実現したということは、これまで見ることができなかった領域を観測できるようになったということと同義である。“新しいこと”や“知らなかった現象”が次々と見つかることを夢見つつ…。

謝辞

BL20XU での実験の際、光学調整等多大なるご協力をいただいている鈴木芳生氏、竹内晃久氏、上杉健太郎氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) O. Z. Kratky: Elektrochem., Ber. Bunsenges. Physik. Chem. 58, 49 (1954).
- 2) U. Bonse and M. Hart: Appl. Phys. Lett. 7, 238 (1965).
- 3) K. Inoue, T. Oka, K. Miura and N. Yagi: AIP Conference

Proceedings 705, 336-339 (2004).

4) Inoue, N. Y. a. K. J. Appl. Cryst. 36, 783-786 (2003).

5) Y. Shinohara, H. Kishimoto, K. Inoue, Y. Suzuki, A.

Takeuchi, K. Uesugi, N. Yagi, K. Muraoka, T. Mizoguchi and Y. Amemiya: SAS2006 Proceedings (2006).

● 著者紹介 ●



井上勝晶

財高輝度光科学研究センター 利用研究
促進部門 副主幹研究員

E-mail: katsuino@spring8.or.jp

専門: X線小角散乱

【略歴】

1997年広島大学大学院理学研究科物性
学専攻博士課程後期修了, 1997年理化学
研究所基礎科学特別研究員, 1999年
より現職



八木直人

財団法人高輝度光科学研究センター 利
用研究促進部門 主席研究員

E-mail: yagi@spring8.or.jp

専門: 非結晶 X線回折

【略歴】

1975年東京大学物理工学科卒業, 1980
年東北大学医学部助手, 1982年医学博
士, 1990年東北大学医学部助手, 1997
年より現職

The Present Status of Beamlines for Ultra Small-angle X-ray Scattering experiments at SPRING-8

Katsuaki INOUE SPRING-8/JASRI 1-1-1, Koto, Sayo, Hyogo 679-5198

Naoto YAGI SPRING-8/JASRI 1-1-1, Koto, Sayo, Hyogo 679-5198

Abstract Recently, in SPRING-8, the improvement of the optics of some beamlines for Small-angle X-ray scattering (SAXS) experiments has been attempted and the very high small-angle resolution has been achieved. Then, the ultra small-angle X-ray scattering (USAXS) experiments become possible to be performed. We will report the present status of two beamlines, BL40B2 and BL20XU, which is using for USAXS measurements, especially in the technical aspects.