

## SAXS-UG 紹介

京都工芸繊維大学・櫻井伸一 (SAXS-UG 代表)  
 奈良先端大学院大学・上久保裕生 (SAXS-UG 副代表)  
 名古屋工業大学大学院・山本勝宏 (SAXS-UG 副代表)  
 京都大学大学院・奥田浩司 (SAXS-UG 副代表)

### 1. はじめに

小角散乱ユーザーグループ (SAXS-UG) は、その前身である酵素回折計 UG, (旧) 小角散乱 UG が合併され、2012 年 4 月に発足しました。2013 年 4 月に BL-9C の SAXS 利用が終了したことにともない、その運営を担っていた BL-9C SAXS ユーザーチームが合流し、現在の体制となりました。酵素回折計 UG の活動を含めると、35 年間という、PF-UG の中でも非常に長い歴史を持つ UG です。会員数は現時点で約 90 名、北は北海道大学から南は長崎大学に至るまで、また、会員の研究分野は無機、金属、生物・生命関連、有機、高分子など、ハードからソフトマターに至るまで、多岐にわたっています。昨年 1 年間の発表論文登録数は 59 報 (原著論文 53 報、総説・解説記事 6 報) であり、図 1 に示した新 SAXS-UG 発足以来の登録論文数の年次推移を見ると、増加傾向にあることがわかります。小角散乱ビームライン (BL-6A, BL-10C, BL-15A2) の全有効課題数が 120 ですので、そのほぼ半数の論文発表が昨年 1 年間で発表されている計算で、1 つの課題有効期間 2 年の間に課題あたり平均 1 報、という現状です。このように、比較的高いアクティビティに加えて、施設側が行う SAXS ビームラインの高度化に対してユーザー側からも積極的に意見提供や具体的なプランの提案を行うだけでなく、実際に測定解析技術開発を共同で行うなど、その高度化に強くコミットしています。本稿では、このような種々の活動の中から、次の 3 つの項目に絞ってご紹介致します。

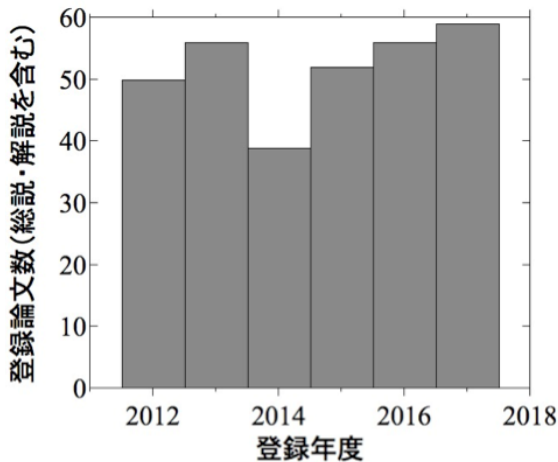


図 1 SAXS-UG にかかる登録論文数の年次推移

- ① データサイエンスに基づく材料寿命予測のための X 線散乱計測の高度化
- ② 蛋白質の構造 / 相互作用解析を指向した  $\mu$  流路型自動サンプリングシステムの導入
- ③ Tender X 線利用による GISAXS (微小角入射 X 線小角散乱) 測定技法の高度化

### 2. データサイエンスに基づく材料寿命予測のための X 線散乱計測の高度化

近年、様々な分野で人工知能 (AI) による将来予知が可能となってきています。将来予知に関係のありそうなたくさんの情報をもとに、現象発現との因果律を分析して、その現象が起こる確率を割り出します。AI による予知が高精度であっても、多くの場合、因果律に特別の理由がなく、種々の条件が重なった時に、当該の結果が発現する確率が高まる、という類いのものです。科学的に因果律を解明する必要があることは疑う余地はありませんが、支配的因子が数多く存在する場合は、決定論的な予知はほぼ不可能で、確率的予知がむしろ重要であるということだといえます。このような場合、データサイエンスに基づく手法が有効であることが知られています。時々刻々変化するパラメータを将来予知のシミュレーションの初期値として使うことによって、近未来の予知精度を高めることができます。このような手法は「データ同化」と呼ばれ、典型的な成功例が近年の天気予報の的中精度の向上です。我々はこのようなデータ同化手法を材料破壊に応用することを目指して、ビームライン担当者のご協力を得ながら、データサイエンスの研究者と材料破壊の計算機シミュレーションを専門に行っている研究者とともにチームを結成して、このプロジェクトを進めています。

本プロジェクトでは、一軸延伸や圧縮変形、曲げ変形といった外的刺激が加えられた時の構造変化を X 線散乱測定によってつぶさに調べ、破壊につながる構造変化のプロセ

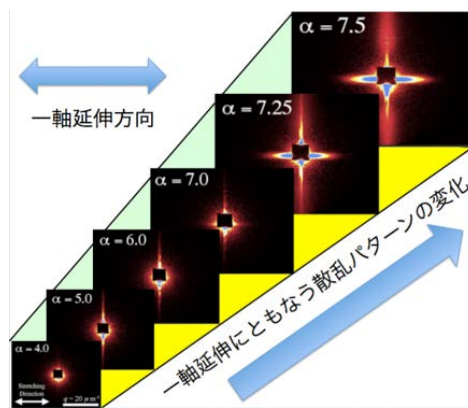


図 2 高分子材料の一軸延伸にともなう超小角 X 線散乱パターンの変化

ス（X線散乱パターンの変化（一例として図2に示す））を明らかにします。このようなプロセスは無数にあるかもしれませんが、案外、少ないかも知れません。いずれにしても、破壊に至るルートはたった一つしかないという訳ではないことは確かです。そこで、材料を変形させて行く過程でX線散乱パターン（小角散乱と広角散乱の同時測定）を時分割測定することが、本プロジェクトのねらいですが、同時に、色々な場所における構造変化（空間分布）も明らかにする必要があります。つまり、X線散乱パターンの時間変化と空間分布を同時に調べる必要がある訳です。

本プロジェクトはまだ始まったばかりで、外部資金を獲得するために今年度の科研費に申請を予定しています。材料の破壊予知・寿命予測は、安全・安心な社会構築のために非常に重要ですが、本プロジェクトで目指す目標が達成されれば、色々な重要課題に応用が期待されるため、施設側で進められる技術開発に対してUG側も積極的に関与し、測定解析法の確立に向けて共同で高度化を進めているところです。

### 3. 蛋白質の構造 / 相互作用解析を指向した $\mu$ 流路型自動サンプリングシステムの導入

蛋白質溶液試料を対象とした SAXS (BioSAXS) は、各国の放射光施設でしのぎを削って整備が進められています。近年、欧米ではサイズ排除クロマトグラフィー (Size Exclusion Chromatography, SEC) と SAXS を組み合わせた SEC-SAXS が盛んに行われるようになってきました。当初は、SEC によって精製された直後の試料を用いることで経時的に形成される凝集体を完全に除去し、単分散の蛋白質からの散乱を測定することを目的としていました。溶液を流しながら測定することによって、放射光によるサンプルの放射線損傷を低減することが可能となり、相乗的な効果によってデータの信頼性は劇的に向上しました。さらに、低ノイズ・大面積の時間分解測定可能な Photon counting 検出器の導入が進むにつれ、SEC から溶出される試料を高い時間分解能で連続測定することで、凝集体の除去のみならず、分離が難しい混合溶液中の単一複合体に由来する散乱曲線を分離することが可能となり大きな成果を上げています。現在では、SEC-SAXS が測定できる環境は放射光における BioSAXS において必須の要件となっています。PF においても、2016 年から本格的に SEC-SAXS システムがユーザーに公開され、現在では多くの課題で標準的に利用されるようになってきました。一方で、比較的弱い相互作用によって形成される、複数の蛋白質からなる複合体においては、交換反応が速い解離会合平衡状態にあるため、SEC によって複合体からなる画分を得ることが原理的に困難となります。このような弱い相互作用で関連付けられた分子複合系を対象とした構造・相互作用解析を実現するため、2013～2017 年度新学術領域研究（動的秩序と機能）において  $\mu$  流路を活用した自動サンプリングデバイスが開発され、現在、PF への導入が進められています。このデバイスは (i) Inlet channel, (ii) Mixing channel, (iii)

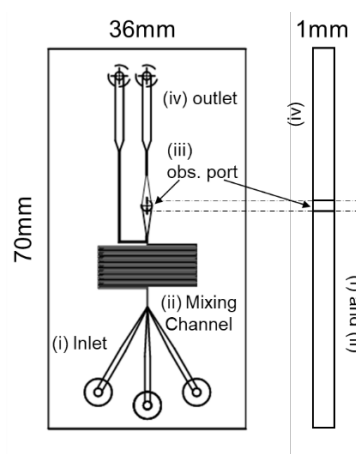


図3 自動サンプリング用  $\mu$  流路デバイス

Observation port, (iv) Outlet channel の4カ所の部位によって構成されています（図3）。

図3に示したデバイスは3つの Inlet channel を有しており、シリンジポンプによって流速を制御した3種類の溶液を独立に流入させることができます。このデバイスの最大の特徴は (ii) Mixing channel にあります。この部分には、全長 400 mm の流路（内容量 8  $\mu$ L）が折り畳まれています。溝の幅が狭い場合、複数の溶液を1つの流路に合流させると、合流した後もこれらの溶液は混ざり合うことなく層流を形成し、Mixing channel の最下流では各層の幅に比例した割合で溶質が拡散混合した混合溶液が調製されます。各層の幅は Inlet channel に流し込まれる溶液の送液速度に比例するため、この混合比率は流速によって任意の値に制御することができます。デバイスの特性上、微小溶液をただそれだけ取り出し測定に供することはできません。代わりに、一般に販売されているシリンジポンプ等を用い、 $\mu$  流路に送液する各溶液の流速を変調させることで、希釈率を連続的に変化させた溶液を調製することが可能です。調製された溶液は、順次、観測部に流入し散乱曲線を連続測定することで、結果的に、様々な濃度比率で混合された溶液の散乱曲線を多数収集することができます。図4に一方に蛋白質溶液、他方に緩衝液を送液した2液混合の実例を示します。

図4aのようにシリンジポンプの流速を調整すると、35分から120分間に元の蛋白質溶液の5%から97.5%に線形的に順次希釈された溶液が調製され、それに応じた散乱曲線の変化が測定されます（図4b）。散乱曲線の積分強度を計算し時間に対してプロット（図4c）すると、実測値と予測値の間の残差の割合は、低濃度領域で $\pm 2\%$ 程度、高濃度領域で $\pm 0.5\%$ であることがわかります。一般的な分注機の精度は数%であることを考えると、高い精度で濃度が制御されていることがわかります。使用した蛋白質溶液はたかだか 100  $\mu$ L 程度であるにもかかわらず、85点にも上る溶液からの散乱曲線を自動的に収集することができます。ここで示した例は、単に蛋白質を希釈しただけの結果ですが、異なる複数の蛋白質を送液すると、散乱曲線

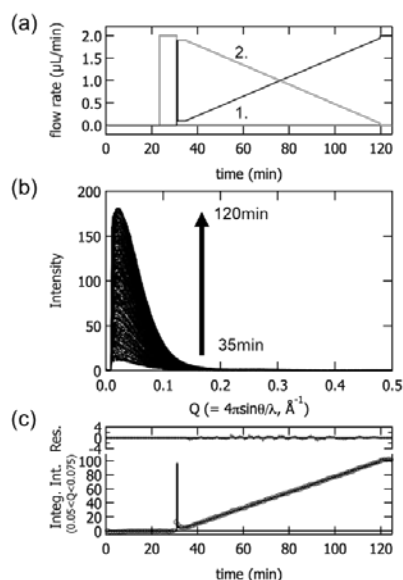


図4 2液混合の応用例。(a) Pump 流速チャート, (b) 自動サンプリングされたオプアルブミン由来の散乱曲線, (c) 積分強度の時間依存性。

を指標とした多次元の滴定実験が可能になり、複合体の構造のみならず、その相互作用（解離定数  $K_d$ ）を評価できます。すでに、PFにおいても SEC-SAXS の測定例は数多く蓄積されつつありますが、複合体が遊離蛋白質と分離できない観測例（ $K_d$  が  $\mu\text{M}$  程度の場合）が数多く見受けられます。このような場合、複合体の構造評価のみならず、その相互作用の解析が可能な本システムは極めて有効であるといえます。現在、施設側で同システムの導入が進められており、UG 側から技術供与を行っています。

#### 4. Tender X 線利用による GISAXS 測定技法の高度化

2014 年に BL-15A2 がアンジュレータービームラインとしてリニューアル整備され、SAXS としては比較的長いカメラ長と tender X 線 (2.1-4 eV) の利用が可能になりました。tender X 線は、主に GISAXS 法 (PF では 2009 年頃の BL-11B での Imaging Plate を使った試行実験が発端) を活用した薄膜の構造解析に利用され、通常の硬 X 線 (8-14 keV 程度) にはない、tender X 線の利点を活かした研究が実施できます。tender X 線を用いた GISAXS の特長は、①薄膜表面から膜厚方向への深さ分解構造解析 (ソフトマテリアルに対して数 10 nm ~ 数 100 nm の分解能) が可能、②臨界角が比較的大きいことに起因して入射角を大きく取れることからフットプリントが小さくなる、③X 線吸収端近傍の元素選択的構造解析が可能 (BL-15A2 では K 吸収端として以下の元素 P: 2.145 keV, S: 2.472 keV, Cl: 2.822 keV, K: 3.068 keV, Ca: 4.038 keV を対象にすることが可能)、ということが挙げられます。

2014 年秋の利用開始から現在に至る間、施設側によりいくつかの問題点が改善され、利便性が向上してきました。さらに先端研究への展開を目指した高度化を行うため、外部資金の獲得へ向けて、ユーザー有志と施設側との共同

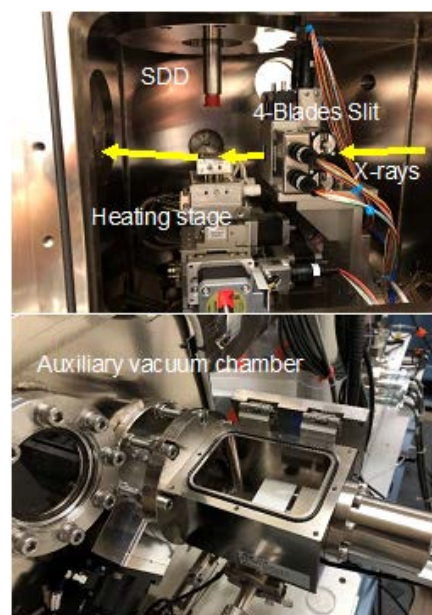


図5 新試料チャンバー。上：試料部，下：試料交換用の副室。

研究が始動し、めでたく 2017 年度から科研費（基盤研究 B: 17H03065）を原資にした高度化をスタートさせました。まず第 1 に従来の試料チャンバーを撤去し新たにデザインしたチャンバーを導入しました (図 5)。新チャンバーにはサンプル交換用の副室を含むサンプル交換機構が装備されており (図 5 下)、試料交換時はこの小さな副室のみを大気開放すればいいため、交換効率が向上しています。また、上流からの寄生散乱をカットするために試料の直前に 4 象限スリットを設置し、試料ステージの稼働軸の増強も行いました。さらに、上記の tender X 線を用いた GISAXS の特長③の利点を活かす目的で、新チャンバーには、真空対応のシリコンドリフト検出器 (SDD) を導入し、蛍光 X 線の同時検出も可能にしました。ユーザーとの協力で、試料加熱用のヒートステージも以前より導入されており、新チャンバーでも引き続き利用することが可能です。これらのハードウェアのアップグレードに加えて、測定制御ソフトウェアの改良も計画されています。試料面の自動アライメント機能、X 線の斜入射角の自動スキャン機能、異常分散測定のための測定エネルギーの自動スキャン機能などは既実装されていますが、さらなる自動化に向けてユーザー側の利用経験等を施設側のシステム開発にフィードバックさせるなど、UG 側からも積極的に情報提供、意見交換を行っているところです。

#### 5. 今後の活動

小角散乱 UG では、12 月 20, 21 日に PF 研究会「多様な物質・生命科学研究に広がる小角散乱～多(他)分野の小角散乱を学ぼう！」を企画しています。小角散乱は、無機・金属・生物・高分子など、多くの分野でなくてはならないツールとなっています。しかしながら、初心者ユーザーからは「小角散乱はとっつきにくい」という

意見を聞くことが多く、また、ともすれば、熟練したユーザーでも小角散乱の種々の有効性を活かすことなく、お決まりの解析方法で満足し研究を慢性的に続けている、という場合があることも否めません。他の分野で実施されている実験やデータ解析の方法、あるいは研究内容自体を知ることが、研究者自身の今後の研究展開の刺激になり、研究の殻を打ち破る良い機会になると思いますが、なかなか、ご自身が所属しておられる学協会以外の研究発表の場には、参加する機会がなく、そのような機会を作ることも困難です。分野の裾野の広がり著しい小角散乱グループのユーザーが一堂に会して、たくさんの研究発表を一つの講演会場で座して聴講できる機会を持つことは、非常に有効であると考え、このPF研究会を企画致しました。小角散乱UGの次世代を担う若手～中堅の研究者の方々、ならびに、当UGで中核的な役割を担っておられる研究者の方々に加え、中性子を用いた研究を展開しておられる研究者にも講演をお願いしております。皆様の積極的なご参加を心よりお待ちしております。