

## 入射器の現状

加速器第五研究系研究主幹 惠郷博文  
(2025年1月22日付け)

### 運転状況

電子陽電子入射器は、10月よりPFリング、PF-AR、SuperKEKBメインリングのビーム蓄積状況に応じた同時トップアップ運転を実施した。PF-ARは12月16日、その他の3リングは12月27日にビーム入射を終了し、入射器は冬期メンテナンスを実施している。メンテナンス終了後、2月12日に立ち上げ、2月25日までビーム調整を行なって、2月25日からPFリング、3月3日よりPF-ARにビーム入射を再開する。SuperKEKBは運転期間の連続が望ましいこと、気温上昇による機器負荷増を考慮して2025年第1期(春)の運転は行わず、第2期(秋)から立ち上げて、できるだけ長期にわたりビーム入射を行う予定である。

次に2024年度第2期の運転で生じたトラブルについて報告する。12月9日以降、17ユニットの直流四極電磁石電源の通信異常が多発するようになった。シリアル通信制御によるレガシータイプの電源であったため、Ethernet制御タイプ電源と交換して復旧した。また、61ユニットの直流四極電磁石電源に出力電圧不良の故障が生じたため、代替電源と交換した。このユニットに組み込まれている電磁石電源群は1990年代製で耐用年数を超えて経年劣化が進んでいる。交換した電源自体も旧式であるため、来年度に61ユニット電磁石電源全体の更新を行う。近年、老朽化した電源の故障頻度が高く、ビーム運転に支障を来たすようになっているため、3年計画にて電源更新を実施している(PFニュース42-3号参照)。

光源リング入射ビームや陽電子生成1次電子ビームを生成している熱電子銃の電荷量変動が11月末より大きくなった。電荷量の変動はビームの軌道変動によって生じることも多く、陽電子ビームは機械学習制御により、Aセクターのパルスステアリング電磁石でビーム垂直方向の軌道を常時自動調整して安定化制御がかけられているが、この電

荷量変動は軌道補正では改善できなかった。調査の結果、熱電子銃の高圧ステーション内の温度変化が通常より大きく、カソードを熱しているヒーターの電圧出力に影響を与えていることがわかった。熱電子銃を設置している室内は精密空調で安定化されているため、高圧ステーション内の排熱不良などが考えられる。そのため、冬期メンテナンスにて高圧ステーションの機器調査と改善を行う。

一方、11月27日から生じたSuperKEKB-HER用低エミッタンスビームを生成するRF電子銃の放電は、ビーム運転最終日まで完全に回復することはなく、この電子銃に投入するRF電力を制限したシングルバンチ運転となった。2バンチ運転回復のため、入力RFパルス幅を調整しながらコンディショニングを行い、安定性改善を図った。しかしながら、反射異常が生じた後の電子銃空洞の真空回復が悪く、コンディショニングに時間がかかるため、HERビーム運転時間の確保を優先して今期の2バンチ運転は断念した。現在、放電を大幅に軽減させる新設計RF電子銃を製作中である。製作完了後に入射器のRFテストスタンドで十分に大電力コンディショニングを行い、今年の夏期メンテナンスにてインストールする予定である。また、RF電子銃カソードに照射している第1レーザーの5段目アンプが温度異常となって出力電荷量に変動を生じたため、アンプの交換作業を行なった。RF電子銃の不調によりシングルバンチに制限した運転であったが、ビームのエミッタンスは40～60 $\mu\text{m}$ の範囲で調整され、HERビーム伝送路での入射調整により入射効率是比较的高く維持され、60～80%であった。

### ビーム研究

#### ・放射光光源用電子ビーム

PFリング、PF-ARの両光源リングへの入射において、

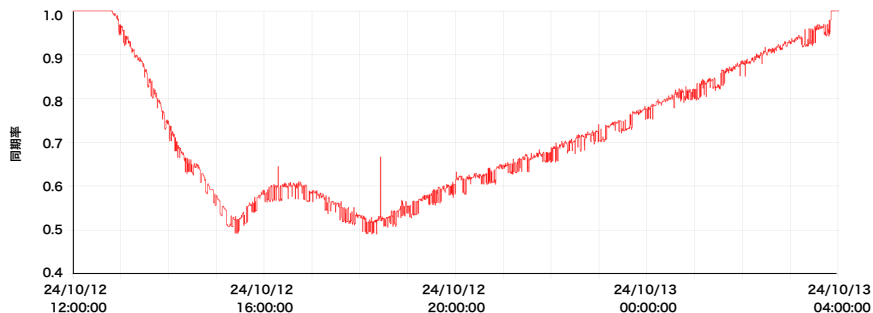


図1 三重同期システムによる同期率の日時変化例。縦軸は50 Hz 約5分間の同期出力比を表す。

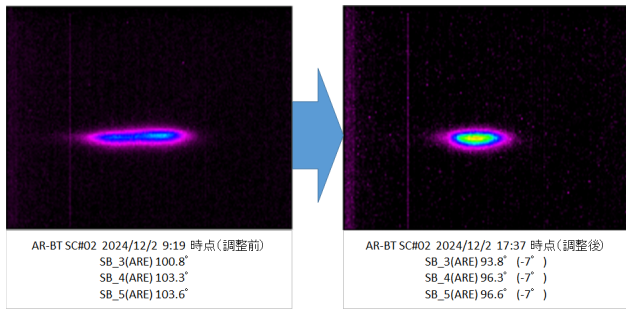


図2 3～5セクターのRF位相調整によるAR-BTでのビームプロファイル改善例

ビームロスタイムによる入射停止率は1%未滿となり、安定に行われた。光源リングは入射器と単純な整数比にないビーム加速周波数で運転されており、光源リングへの入射タイミングを取るため、三重同期モジュールを使用している。ビームのリング周回周波数、入射器基準RF、商用50Hzを監視して同期が取れたタイミングでビーム出射トリガーを発生する。潮汐の影響や気温などによって蓄積リングの周長が変化してRF周波数が調整されるので、それに応じて同期率も変わる(図1)。同期率が低下してくるとトリガー抜けが生じてくるが、通常、時間と共に同期率は回復する。また、大きな変動が生じた場合は、PFリング側で稼働している入射位相自動フィードバックで修正されるため、ビーム入射への大きな障害にはなっていない。また、PFリングへのビーム入射路(PF-BT)においても、ビーム位置モニター(BPM)を使用したエネルギーフィードバックを行っている。しかしながら、PF-BT内を通過するビームには位置変動とエネルギー変動が混成されているため、エネルギーフィードバックのみでは安定性は不十分である。その解消に向けてPF加速器スタッフと協議しており、新たな補正を行って更なる入射安定化を図る。

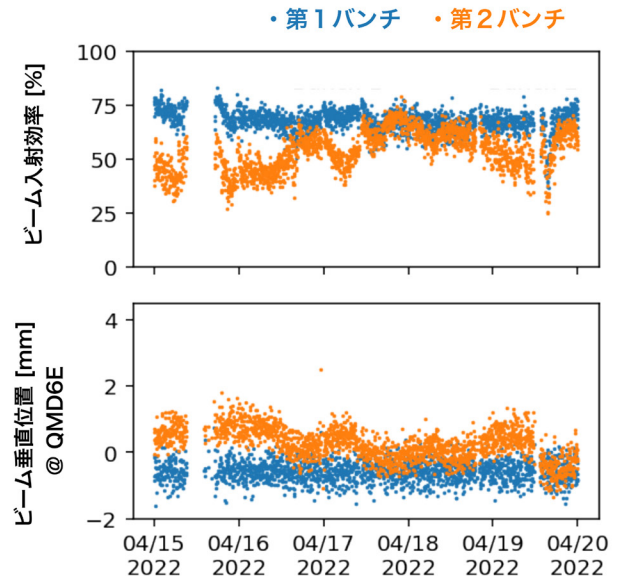


図3 3～5ビーム垂直方向位置と入射効率の比較

PF-ARにおいては、ビーム伝送路(AR-BT)でのビーム形状が水平方向に広がり、AR-BT終端での電荷量が変動してビーム蓄積率が低下することがある。このような場合は3～5セクターのRF加速位相を調整する。これによりエネルギー広がりが小さくなり、入射率も改善する(図2)。

#### ・低エミッタンス電子ビーム

入射器上流Aセクターに今夏新たに設置した垂直方向高速パルスキッカー2台(FY\_A2\_2, FYA4\_4)のビーム運転コミッションングを行なった。これまでの2バンチビーム運転において、第2バンチの垂直方向軌道がずれると入射効率が低下することがわかっている(図3)。よって、立ち上がり時間が2つのバンチ間隔(96.3ns)より早い、

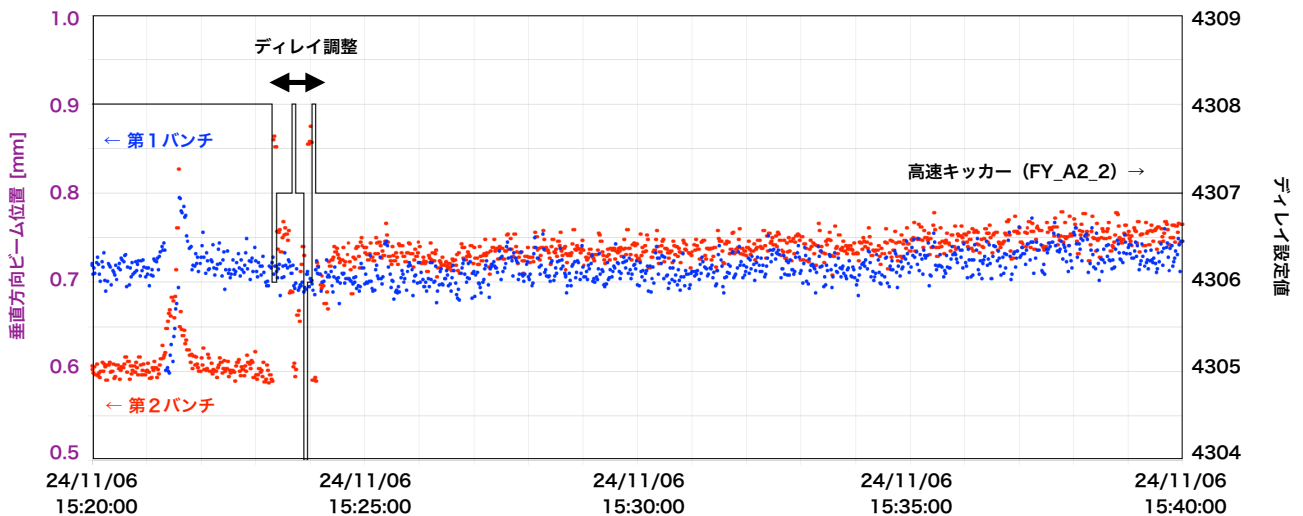


図4 垂直方向高速パルスキッカー(FY\_A2\_2)によるビーム調整状況。青点：第1バンチ垂直方向位置，赤：第2バンチ軌道垂直方向位置，黒：設定タイミングディレイ。

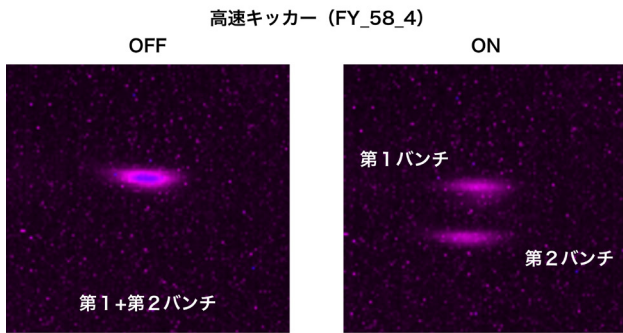


図5 高速パルスキッカー (FY\_58\_4) による2バンチビームプロファイルの変化。左：高速キッカー OFF 時 右：高速キッカー ON 時。

高速キッカーを使用すれば、第2バンチ軌道のみ修正することができる。図4に示すように今回のビーム適用試験で、第2バンチを独立にキックできることを確認、キッカー動作タイミングのディレイ値に応じて垂直方向軌道を精密に制御できることがわかった。位置のジッターは十分小さく、BPM分解能  $10\ \mu\text{m}$  の範囲内であった。キッカー出力ピーク時、立ち上がり時、キッカー動作オフ時の3つの状態においてジッターの有意差はなかった。これらの高速キッカーを自動調整することにより第2バンチの垂直方向ドリフトは解消された。また、高速キッカーによる第2バンチ独立軌道補正を活かして、HER-BTでの第2バンチのエミッタンスが測定できるようになった。これまでは、第1、第2バンチの軌道が重なるため、エミッタンスの測定はできなかった。しかし、入射器出口のFY\_58\_4高速パルスキッカーにより第2バンチのみ垂直方向に大きく軌道差を与えて、第1バンチとの軌道分離を行い、HER-BT第2セクションにあるビーム形状モニタを使用して両バンチのエミッタンスを測定した(図5)。測定したエミッタンスは、第1バンチ：水平  $133\ \mu\text{m}$ ・垂直  $135\ \mu\text{m}$ 、第2バンチ：水平  $145\ \mu\text{m}$ ・垂直  $91\ \mu\text{m}$ であった。HER-BT第1セクションでの両ビームのエミッタンスが垂直、水平ともに  $40\ \mu\text{m}$ 程度であることから、ビーム伝送途中でエミッタンスが大きく悪化していることが改めて確認された。

#### ・陽電子ビーム

2バンチ運転時のエネルギー安定性を上げるため、エネルギー圧縮システム(ECS)の加速ユニット(KL\_61)を調整してビーム加速位相をゼロクロスに設定した。エネルギー圧縮効果によりビーム幅が適正に狭くなっているのを確認し、陽電子ビーム入射路(LER-BT)にてBPMで測定したビーム形状がまとまるように調整した。これによりエネルギージッターが改善した。

3～5セクターにおいて陽電子ビームのエミッタンスが悪化している原因を調査した。陽電子は1.1 GeVダンピングリング(DR)によって水平方向エミッタンスが  $70\ \mu\text{m}$ 程度まで減衰されて入射器へ戻り、4 GeVまで加速される。これまで入射器での測定では水平方向エミッタンスが

$150\ \mu\text{m}$ 程度に悪化した状態であった。調査により入射器内で10 cm程度のディスパージョンが発生しており、エミッタンス増大に無視できない量であった。DRから入射器へのビーム帰路(RTL)の収束電磁石を調整し、ディスパージョンを2 cmまで小さくすることができた。これにより、水平方向エミッタンスも  $110\ \mu\text{m}$ まで下がった。ただし、第2バンチに水平方向振動が残っており、これにより第2バンチのエミッタンスがLER-BT内で悪化し、LER入射効率が悪くなっている。今後は、残るエミッタンス悪化原因と水平振動の原因調査と解決を図っていく。

PF リングおよび PF-AR 第 2 期運転の概要

PF リングは 10 月 7 日 (月), PF-AR は 10 月 17 日 (木) 9:00 に加速器立ち上げ運転を開始した。PF リングのユーザーラン開始は 10 月 10 日 (木) の夕方, PF-AR は 10 月 21 日 (月) であり, 両リングとも立ち上げ時間が実質 3 日ないし 4 日しかないというタイトなスケジュールであったが, 軽微なトラブル対応などはあったものの予定通りユーザー運転に入ることが出来た。PF リングは 12 月 27 日 (金) 9:00, PF-AR は 12 月 16 日 (月) 9:00 に予定通り第 2 期の運転を終了し, 冬期メンテナンス期間に入った。

PF リングの運転状況

図 1 に PF リングのビーム電流と寿命のグラフを示す。

ユーザーラン中にチャンネルクローズして再入射を行う事象はこの期間に 3 回発生している。10 月 22 日 (火) は 4:55 に発生した進行方向ビーム不安定対処のため再入射を実施した。11 月 1 日 (金) 11:57 には電磁石の冷却水インターロックによりビームダンプ発生。リング内に入域して調査を行った結果, 流量には問題は無く外部インターロック回路の故障と判明した (図 2(a))。回路を予備品と交換して復旧した。13:45 再入射を実施したところ, RF ステーションのうち 1 台が立ち上がっていないことが判明。クライストロン反射インターロックが発生しており, その原因は後段にある高周波サーキュレーターの不具合であることが疑われたため, 緊急での交換作業を実施した。16:50 に作業終了して復旧した。図 2(b) に作業の写真を示す。同時に 2 つの大きな故障が偶然に起こるとは考えづらく,

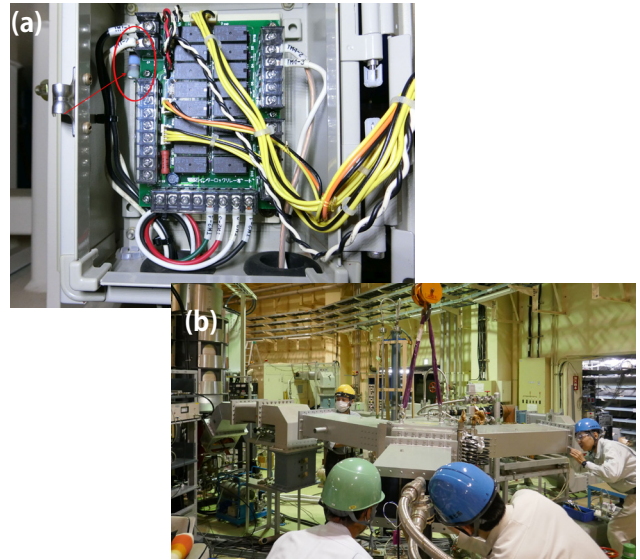


図 2 a) 故障した冷却水インターロック回路基板の一部および b) 高周波サーキュレーター交換作業の様子

電源インターロックでビームを停止したことがきっかけとなって大電力 RF 伝送系の不具合が顕在化した可能性もある。運転終了後の調査により, ダミーロード及びクライストロンに不具合が生じていたことが判明した。今後も同様のトラブルが起きないかどうかの検証を進める。このトラブルではユーザーランを 6 時間あまりにわたって停止することとなったことをお詫びするとともに, 多くの加速器六系職員ならびに業務委託である三菱電機システムサービス

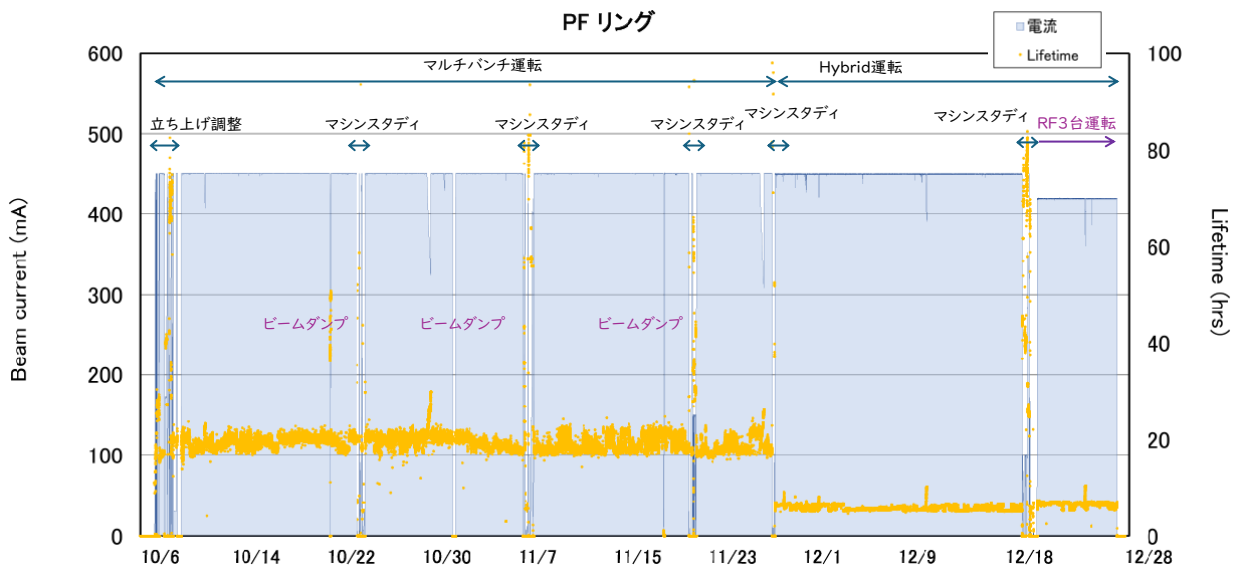


図 1 PF リング 2024 年度第 2 期の運転状況

の協力無くしてはこのような短時間で復旧することは不可能であった。あらためて感謝する。

11月19日(火)4:38には6極電磁石電源の冷却水インターロックのためビーム電流値が大きく減少した。設定変更して復旧している。

11月28日(木)からはマルチバンチ運転から、単バンチ50mA、マルチバンチ400mAのハイブリッド運転に入った。グラフからもビーム寿命が短くなっていることが分かる。これにともなって、Linacからの入射頻度が上昇するため、特にユーザー実験フロア・実験ハッチでの放射線上昇に注意が必要である。放射線管理室によるサーベイにより、前回のユーザー運転に比べて放射線レベルが低下していることが判明した。これはビーム輸送ライン軌道の自動調整や、Linacのエネルギーフィードバックの自動化、入射タイミングの自動調整、蓄積リング側のチューンフィードバックなど、各種の入射安定化にむけた調整が効果を上げたと考えている。ただし、まだ原因が不明な部分もあるため、今後もモニター類の充実と調整の自動化を進めていく。

マシンスタディとして、11月27日にPFの入射キッカー調整がユーザー運転に与える影響をビームライン担当者とともに合同で実施した。今後もこのような部署を横断した形で広くマシンスタディを行うことで、効率的なビーム調整およびより安定したビーム供給につなげていく。

12月20日(金)のマシンスタディ期間にA1ステーションのRFが空洞反射インターロックでダウンしたため、マシンスタディを途中でキャンセルして原因調査をおこなった。最も疑わしかったダミーロード交換や導波管を取り外しての内部観測など、短時間で確認できる範囲での調査・対策を実施したが、残念ながら復帰には至らなかった。そこで、これまでの空洞4台運転から3台運転に切り替えて、総蓄積電流は450mAから420mAに下げた状態でユーザ

ーランに入ることを決断した。ただし、ハイブリッド運転期間中であるため、単バンチ50mAは減らさずにマルチバンチ部分を400mAから370mAに減らす方針としている。運転停止後にハイパワー試験を実施し、今後の対策を検討する。

### PF-ARの運転状況

図3にPF-ARの運転状況を示す。横軸はPFリングでの表示と同じ範囲としている。10月17日(木)に5GeVでの立ち上げを開始した。今回の立ち上げ時には、蓄積電流を従来の50mAから55mAに増やした運転を試みた。これはHigher Order Mode (HOM) 吸収体の冷却系の整備や、運転面では自動でのチューンフィードバックシステムの導入などをうけての試みであり、当初は順調であったものの、11月1日(金)の夕方にAR西側2番空洞最上流のHOMケーブルの温度が上昇し続けている問題が発生したためユーザーランは元の50mAに下げて運転する方針とした。冬の停止期間に追加でのモニター系を整備してからマシンスタディを実施したうえで今後の方針を検討するが、これらの実験および計算の両面から検証をおこないマージンを確認した上で今後の方針を決定する。

10月21日(月)に真空悪化現象が発生した。調査の結果、チタンゲッターポンプのフィードスルー部分からのスロリーークと判明したが、ユーザー運転直前でもあったことから当面の対処として真空封止材(バックシール)での対処とし、運転終了後に交換など本格的な対処を実施する方針とした。

12月5日(木)のマシンスタディでは、2バンチ蓄積する運転モードを試験した。30mA+30mA=60mAモード、32.5mA+32.5mA=65mAモードに成功し、65mAモードは一時間程度安定した運転を実現、今後安定した運用が可能と想定される。50mA+10mAでは不安定性が強く起き

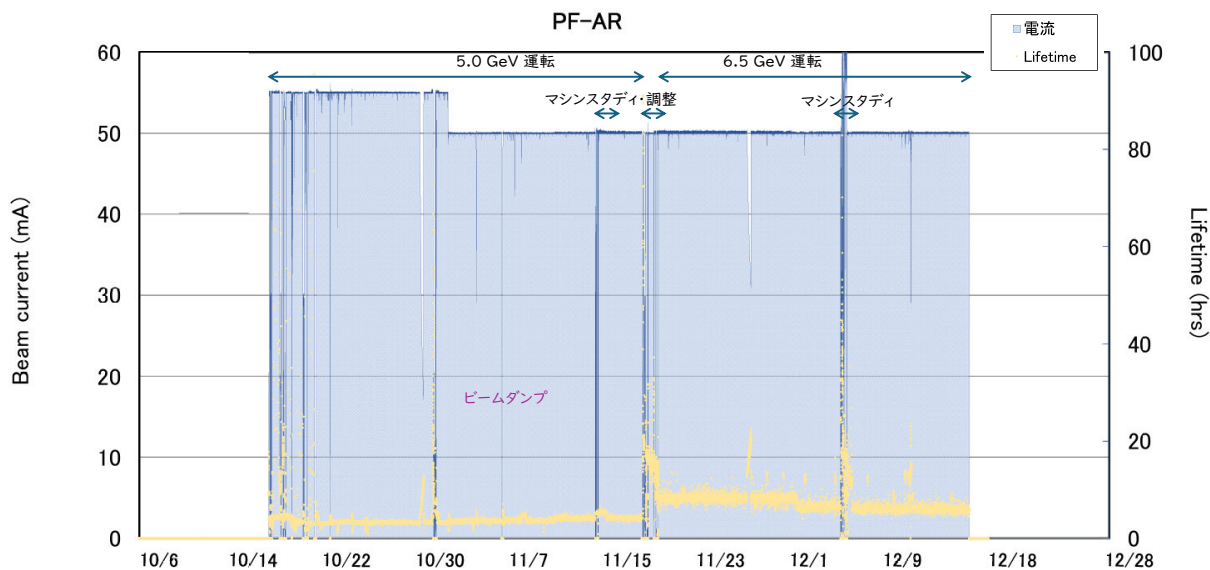


図3 PF-AR2024年度第2期の運転状況。グラフ横軸はPFリングと同じく10月6日(日)～12月28日(土)までの表示としている。

ることも判明した。PF-AR は単バンチ・大電荷での運転が特徴である一方で、加速器のビーム物理現象の調査という面では色々と興味深いデータ取得が可能となるため、今後も色々なパターンを含めスタディを継続する予定である。これはユーザー運転にすぐに適用するものではないが、ユーザーからの要請があれば対応できるように準備する。

12月16日(月)AR運転終了後に電磁石電源を立ち下げる際、KEKBやPFの入射を止めてもらってからDCセプトラム電磁石電源をOFFすべきところ、一斉にOFFしてしまい、KEKBとPFの運転に影響が出てしまった。同様のミスを防ぐため、一斉操作パネルからは当該電源を除外して、個別にOFFするように変更した。また、やはり運転終了後に偏向電磁石2台にてブスバーの冷却用ホース接続口金部より漏水が発生したほか、四極電磁石1台も同様の漏水が発生した。これは加速器停止後に熱負荷が急激に変わるなか、ゴムホースが経年劣化により硬化したことで口金部に応力がかかったことが原因と考えられる。予備品に交換することで対処した。今回の事象は約3年ぶりに発生した。このようなトラブルは定期的に予防交換することで避けることが可能であるが、予算・人員の制限により完全には対応できていないのが現状である。

秋期運転期間において、AR南棟で火災報知器の誤報(非火災報)が頻発した。特に12月10日(火)の夜から11日(水)の朝にかけて頻発したため、12月11日(水)の15:00から調査と対処を行った結果、AR南棟-KEKBコントロール棟間の配線が絶縁不良となっていることが判明したため、その線を切り離し、AR南棟の信号をAR西棟経由でKEKBコントロール棟へ送るように繋ぎ変えた。当面の間、AR南棟で発報するとAR西棟で発報したように表示される。AR南棟-KEKBコントロール棟間の配線は、KEKBの運転が停止してから張り替える予定である。

冬期停止期間には、PF-ARでは故障していた真空系冷却水のチラー更新工事を実施する。工事期間は運転停止直後の12月16日(月)～2月27日(木)とし、2月12日(水)より試運転の予定している。これにより1台のみで運転してきたチラーが2台態勢となるため、1台が故障した際にAR運転停止となる可能性があった状況が改善するほか、5月から6月の運転において気温が上昇した際にも温度制御範囲内での運転が可能となる予定である。

## その他

11月20日にはQSTの小原脩平氏を招いて加速器セミナー「NanoTerasuの蓄積リングコミッショニング」を開催した。小原氏はNanoTerasuにおいて蓄積リングのビーム運転調整を牽引してきた方であり、コミッショニングでは主に横方向ビーム軌道調整に尽力され、蓄積ビーム電流200mAでの利用運転を実現された。セミナーではこれまで学会等で発表してきた内容はもちろん、現場担当者ならではの苦労話なども含めた話を聞くことができた。また、参加したKEK職員からも情報提供・提案するなど、貴重

な情報交換の機会となった。

高校1,2年生を対象としたウィンターサイエンスキャンプが12月24日(火)～27日(金)の3泊4日で開催された。全4コースのうち、加速器六系からは3名がCコースを担当しクルックス管と電磁石をテーマに実習をおこなった。参加した学生からも好評であり、有意義な活動であった。

## 人事異動

最後に人事異動について報告する。1月1日付で下崎義人氏が教授に昇任した。引き続き光源第1グループ(電子軌道・電磁石グループ)のメンバーとしてPFリングおよびPF-ARの電子軌道・ビームダイナミクスに関連する多くの研究開発や、Linacからビーム輸送ラインまで含めての入射調整の高度化に尽力いただくとともに、PFの喫緊の課題でもある次期光源にむけた検討を強力に推進していただく。

2024年10月1日付けで田中窓香氏が准技師として加速器第五研究系から六系に異動となり、真空グループの一員として活動頂いている。おなじく10月1日からは総研大の学生としてAftab Ahmad氏(パキスタン出身)が入学し、RFグループの一員として研究を開始している。

### ビームライン建設関係

広波長域軟X線ビームライン (BL-12A) は、InSb 分光結晶の熱歪み問題や二つのビームの自動切り替え等の課題がいくつか残るものの、ビーム調整作業をいったん完了し、11月より共同利用を再開しました。今後共同利用と並行して調整作業を進めるとともに、広波長域実験に向けた実験システムの開発を進め、早期にフルスペックで利用できるようにしたいと考えています。BL-11については、2024年度第2期の11月7日までに白色を使ったR&Dを進め、その後はいったんBLを閉鎖して建設作業を再開し、2025年冬の停止期間中に硬X線ブランチの光学系ハッチまで完成させる予定です。2024年度第3期には、軟X線領域集光白色ビームと光学系ハッチ内で硬X線領域非集光単色/白色ビームを利用できるR&D実験スペースが利用できるようになる予定です。高速高精度二結晶分光器R&D等がスタートします。また、建設予算の問題について、機構からの支援が認められましたので、2025年夏に完成できる見込みが立ちました。BL-11のR&D利用に向けた実験システムの開発が進められている一方で、BL-11でのR&D用の実験課題制度もPF-PACでの議論が進んでおり、2025年3月のPF-PAC全体会議で承認されれば2025年5月締め切りの実験課題公募から申請が可能になります。PF-UAでも、昨秋のPF研究会に引き続き、2025年1月20日にBL-11利用に関する会議が開催され、様々な研究提案が議論されていました。いよいよBL-11の利用が開始されますので、ユーザーの皆様にもぜひ積極的に利用提案やR&Dの提案をよろしく願います。



図1 1/23時点のBL-11建設作業の様子(完成した光学ハッチとハッチ内に設置されたR&D用二結晶分光器が見える)。

### 運転・共同利用関係

2024年度第3期の運転ですが、PFは2月25日から3月24日まで、PF-ARは3月3日から3月24日までを予定しています。PF、PF-ARともに3月13日、14日は、量子ビームサイエンスフェスタのため、ユーザー利用を一時停止する予定です。PFのハイブリッドモードは3月18日から3月24日を予定しています。また、今回は期間が短いので、PF-ARは6.5 GeVのみで運転します。第2期の後半で、PFのRF#1の故障が発生し、最後はRF3台運転とさせていただきますでしたが、冬の停止期間中に光源担当者が調査を進め、クライストロン本体のパラメータを調整することで稼働できるようになり、第3期はRF4台運転で開始する予定です。ただし、長期運用に耐えられるかどうかは様子見する必要があります。

2025年度の運転についても議論が行われ、第1期の運転予定が決定されました。第1期は、PFが5月7日から7月7日、PF-ARが5月13日から6月30日まで運転される予定となっています。第2期、第3期についても、光熱水料確保の問題はありますが、PF3600時間、PF-AR2400時間の利用運転に向けて機構側と相談を進めたいと考えています。

PF-PACの全体会議が1月24日にWeb会議方式で開催され、課題の評点と採否が審議されました。開発研究多機能ビームラインの運用制度や課題申請書の改訂、液体ヘリウムとの状況と対応、新放射光源施設計画に関する協議等が行われました。詳細については、本誌記事(p.36)をご参照ください。

第42回PFシンポジウムは、3月14日につくば国際会議場(エポカルつくば)で開催されます。今回総合討論を午前と午後の2回に分けて実施する予定です。午前は運営への要望、午後は次期計画に関することについて、ユーザーの皆さんと意見交換をしたいと思います。午後にはPF-UA総会や学生論文賞の受賞講演も予定されていますので、皆さんの積極的なご参加をお待ちしています。

今回は二系の担当で、生体高分子の結晶構造解析における位相決定法の変遷と現状について述べたいと思います。位相決定は結晶化と並んで重要かつ困難な部分とされてきました。技術の進歩やデータの蓄積により、以前ほどの困難さはなくなりつつあるものの、測定データの質が位相決定に大きく影響しますし、最終結果にも（間接的に）影響を与えます。また、測定技術の進化に伴ってユーザーに求められる位相決定に関する知識も変化しています。これらの変化は好ましいことではありますが、位相決定がうまくいかない場合にどのような対処をすべきかの知識が失われつつあることは問題ですし、難しい解析を行う人材の不足などの問題も生じそうです。今回は、位相決定に関するこの数十年の変化を振り返るとともに、今後の行方についても触れたいと思います。

### 1. 重原子同型置換法から多波長異常散乱法へ

生体高分子の結晶構造解析は、(多重)重原子同型置換法から始まりました [1]。この方法では、いわゆるネイティブ結晶と重原子を導入した重原子同型置換体の結晶の回折データを収集し、両者の回折強度の差から重原子の位置を決定します。そして求めた重原子座標を元にして生体高分子結晶の位相を計算します。重原子同型置換体は2つ以上作る必要がありますので、かなりの試行錯誤が必要な方法でした。現在では、この方法はほとんど使われていませんが、位相決定に関する統計値の理解は生体高分子の結晶構造解析の基礎ですし、多波長異常散乱法 (MAD 法) や単波長異常散乱法 (SAD 法) など重原子同型置換法の後に開発された手法を理解する上でも基本となるものです。しかし現在、多くのユーザーがこれらの統計値やその背景を意識することはなくなっています。これは、ソフトウェアが高度化、自動化したことで、プログラムが一気に分子モデルを出力するようになったためです。簡単な解析ではこれで十分なのですが、データの質が悪いなど難しい解析の際には、統計値をきちんと評価してその結果を実験にフィードバックすることが必要になってきます。

生体高分子構造解析の初期段階では、ほとんどのタンパク質結晶構造が重原子同型置換法によって決定されましたが、上で述べたように試行錯誤が必要な方法です。この欠点を補ったのが、Hendrickson らによって開発された MAD 法です [2]。この方法では、セレンメチオニン置換タンパク質を準備する必要がありますが、それさえできれば高精度のデータを用いて位相決定が可能のため、試行錯誤を大幅に削減することができました。また世界的に放射光施設が普及したことにより、多くの解析が MAD 法によって行われるようになりました。当時はセレンの位置を特定するために必要な高精度のデータを取得することは、それほど

容易ではありませんでしたので、測定法の工夫が色々行われました。MAD 法では、複数の波長 (通常は、3-4 波長) で回折データを収集し、それを解析することで位相を決定しますが、複数波長のデータ収集は結晶にダメージを与えするという点が問題でした。私の経験でも 2 波長目以降のデータは質が低く、位相決定にほとんど寄与しないことが多かったように思います (まあ、データ収集の方法が悪いせいでもあります。。。)。そのため、多波長で無理にデータを収集するよりも、1 波長で高精度のデータを収集する方法へと変化していき、SAD 法が多く使われるようになっていきました。SAD 法では理論的には一味的に位相が決まりませんので、その曖昧さを解決する必要があります。このため、SAD 法の成功には density modification の発展が重要でした。個人的には density modification の計算過程における figure of merit の見積もりが大きく改善したことも SAD 法の一般化に重要であったと思っています。

### 2. セレンから硫黄へ

異常分散効果を用いた位相決定法である MAD 法には、主にセレンメチオニン中のセレン原子からの異常分散効果が利用されてきましたが、測定技術の進歩に伴い硫黄を利用する手法が発展してきました [3]。国内では故 渡邊信久博士のグループが先進的な研究を行い、硫黄の異常分散効果を利用した位相決定を現実的にするのに大きな役割を果たしました [4]。現在では長波長 X 線を用いて硫黄の異常分散効果を増強した回折強度測定を行うことが PF では可能となっています。さらに、直接検出器の導入により高精度なデータ収集を実現したこと、結晶成形装置 [5] を活用したデータの質の向上も相まって硫黄の異常分散効果を用いた構造決定 (Native SAD 法) はそれほど困難ではありません。結晶整形装置は長波長 X 線を使つての回折データ測定の際に問題となる結晶の周囲の水や結晶自身の余分な部分を取り除くことが可能で、回折データの質の向上に役立っています。硫黄を利用すれば、セレンメチオニンを用いたタンパク質の調製を省略できますので、一般的な位相決定法として利用することが可能です。ユーザーの皆様には是非一度試してみたいと思います。その際には、ビームラインスタッフにご相談ください。このように実験的に位相を求める方法では、回折強度測定技術の高度化に伴い極めて小さな回折強度の差異を利用することができるようになってきました。一方で、蓄積された座標データを活用する分子置換法による構造決定の数が急速に増えて来ており、実験的な位相決定を凌駕する状況になっています。



### 3. 分子置換法とアルファフォルド

分子置換法は、ターゲットとなる構造が既存の構造と類似している場合に、その既知の構造を用いて位相を決定する方法です。近年では Protein Data Bank (PDB) に多くの座標データが蓄積されているため、ターゲットとしている生体高分子の構造と類似の構造がすでに決定されていることが多く、分子置換法による構造決定が可能なケースが増えています。さらに、高精度の構造予測 AI の登場により、分子置換法においてこれらの予測構造を活用することが増えてきました。AlphaFold [6] が登場した当初は、予測構造が分子置換法に利用できるのかわかりませんでした。あつという間に分子置換法で有効に活用できることが明らかになり利用が広がりました。このような状況になると、「そもそも結晶構造を決定する必要があるのか」という疑問が提起されることもあります。もちろん、実験的に得られた構造は予測構造とは異なる情報を提供するため同じものではありませんが、予測構造を利用して次の実験に進むケースが増えているのも事実です。そのため、予測構造と実験構造をどのように使い分けるかが重要な課題となっています。

分子置換法は実験による位相決定に比べ手軽ではありませんが、初期構造は当然最終的な構造とは異なっており、結晶学的精密化の段階におけるモデルバイアスが問題となります。精密化の過程でこのモデルバイアスを除いていくわけですが、分解能が低い場合にはなかなか難しい作業となります。近年では分子置換法と実験的な位相決定を組み合わせることで、モデルバイアスを除くことも行われており [7]、実際にこのような位相決定の方法をとることで、高精度のモデルの構築が可能になり結晶学的な精密化も迅速に終わらせることができます。

### 4. 位相決定の今後

今後の目標の一つとして、in situ 測定系（結晶化プレート上にある結晶をクライオルーブですくって凍らせることなく、直接 X 線を照射して回折強度を測定する手法）でのデータの高精度化があります。In situ の測定は BL-17A で可能ですが、この測定で異常分散効果が高精度で測定できるようになれば、結晶化スクリーニングの全自動ロボットを有する我々のセンターにおいては [8]、生体高分子の結晶構造解析の完全自動化も視野に入ってきます。In situ の測定に関しては、また機会を改めて報告したいと思います。

本稿で述べた通り重原子同型置換法に始まった生体高分子の立体構造解析の位相決定ですが、今では硫黄を使った位相決定と分子置換法を組み合わせることで構造決定までが可能になりました。これは測定装置の高度化、データ解析プログラムの発展、さらには理論的な進歩があつてのことです。これらが高度化するとともに、ユーザーが覚えなければいけないことは劇的に減っており、結晶構造解析の理論を知らなくても構造解析ができるという一昔前からすれば夢のような状況が達成されています。一方で構造解析が困難な例は依然として存在しています。これらの困難な構造

解析を行うためには、専門知識や理論的裏付けが必要となる場合が多いのですが、結晶学理論の理解が不要となるにつれ、一般ユーザーにとっては難しい解析にどのように対処するかが課題となって来ているように思います。そのような状況を考慮し、構造生物学研究センターでは解析相談体制の拡充を目指していくべきなのではないかと考えています。

- [1] Blow, D. M. (2002). *Outline of Crystallography for Biologists*. Oxford University Press.
- [2] Hendrickson, W. A. (1991). Determination of macromolecular structures from anomalous diffraction of synchrotron radiation. *Science* 254 (5028), 51-58.
- [3] Cheng-Yang, J. W. Pflugrath, D. A. Courville, C. N. Stence, J. D. Ferrara (2003). Away from the edge: SAD phasing from the sulfur anomalous signal measured in-house with chromium radiation. *Acta Crystallogr.* D59, 1943-1957.
- [4] Kitago, Y., Watanabe, N., Tanaka, I. (2005). Structure determination of a novel protein by sulfur SAD using chromium radiation in combination with a new crystal-mounting method. *Acta Crystallogr.* D61(11), 1013-1021.
- [5] Kawano, Y., Hikita, M., Matsugaki, N., Yamamoto, M., Senda, T. (2022). A crystal-processing machine using a deep-ultraviolet laser: application to long-wavelength native SAD experiments. *Acta Crystallogr.* F78, 88-95.
- [6] Jumper, J., *et al.* (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 59, 583-589.
- [7] Schuermann, J. P., Tanner, J. J. (2003). MRSAD: using anomalous dispersion from S atoms collected at Cu  $K\alpha$  wavelength in molecular-replacement structure determination. *Acta Crystallogr.* D59, 1731-1736.
- [8] Kato, R., Hiraki, M., Yamada, Y., Tanabe, M., Senda, T. (2021). A fully automated crystallization apparatus for small protein quantities. *Acta Crystallogr.* F77, 29-36.

### 人事異動

放射光科学第一、第二研究系に関連する人事異動を報告します。

放射光科学第一研究系では、2025年1月1日付けで低速陽電子実験施設で博士研究員をされていた Rezwan Ahmed 氏が特別助教として着任されました。

放射光科学第二研究系では、2024年12月1日付けで研究員として Simon Miller 氏が、また、同12月16日付けで研究員として藤井裕己さんが着任されました。新しい環境での活躍を祈念いたします。