

はじめに

2021年度より物構研の体制が新しくなりましたが、放射光科学第一，第二研究系については引き続き、私と千田俊哉教授がそれぞれの主幹を務めます（私は物構研副所長を兼任）。研究系は、ある物質群や現象（サイエンス）をターゲットとし、放射光はもちろん、低速陽電子、中性子、ミュオンなどの様々な手法を駆使して物質・生命科学を先導することをミッションとしています。このミッションと深く関連する組織として、構造生物学研究センターと量子ビーム連携研究センターがあり、それぞれ千田教授と私が引き続きセンター長を務めます。

放射光科学第一研究系・表面科学研究部門の近況

放射光科学第一研究系には二つの研究部門（表面科学研究部門，固体物理学研究部門）がありますが、今回はそれらのうち表面科学研究部門の近況を報告します。表面科学研究部門は、表面および界面に特有の機能に着目し、それらの機能の発現機構を解明するとともに、新たな機能性物質を創成することを目指しています。この目的を達成するためには、放射光をはじめとする様々なプローブを用いた実験手法を駆使する必要がありますが、その際、単に既存の手法を利用するだけでなく、新たな表面観察手法の開発が必須になります。そこで表面科学研究部門では最近、主に軟X線吸収分光法を用いて、デバイス等が動作している状態で表面付近の化学状態や電子状態を（できれば時間軸も含めて）観察するための手法開発を進めています。具体的には、蛍光収量法による波長分散型軟X線吸収分光法とその深さ分解法への展開，X線励起可視発光を利用した薄膜の軟X線吸収分光法とその波長分散型への拡張などです。また、放射光を含めた様々なプローブの様々な測定手法を複合的に利用した表面科学研究を行うために、真空を保ったままで試料を搬送できる横断型試料搬送システムの開発も進めており、現在までに光電子分光，軟X線吸収分光（磁気円二色性を含む），および偏極中性子反射率に対応しています。

今年度は表面科学研究部門における研究体制にも大きな変化がありました。従来、私と堀場准教授がそれぞれ研究グループを形成して研究・開発を行ってきましたが、後述のように堀場さんが転出し、組頭さんのクロスアポイントメントも終了するのに伴い、私と助教の北村さん、博士研究員の阪田さんの3名で研究グループを形成し、客員教員、協力研究員、連携大学院生、特別共同利用研究員などと連携して研究・開発を進める体制になります。これまで、二つのグループがそれぞれに得意な研究対象や研究手法を持っていましたが、これらを合わせることで、より多面的な表面科学研究を進めることができると期待しています。

人事異動

最後に、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。2021年3月末に、量子ビーム連携研究センターの村上洋一教授が定年を迎えられました。村上教授は、主に構造物性分野において、放射光をはじめとする量子ビームを駆使した研究を先導されてきました。また、2009年に構造物性研究センターを立ち上げ、初代センター長としてマルチビーム利用研究を強力に推進されました。この実績が現在の量子ビーム連携研究センターの礎となっていることは言うまでもありません。さらに、2012年から6年間、放射光科学研究施設（当時）の施設長としてPFを率いるとともに、PFのみならず日本の放射光科学の将来のために尽力されました。村上教授の長年にわたる研究および運営における多大な貢献に、改めて感謝いたします。

新年度に際して多くの人事異動がありました。放射光科学第二研究系・材料科学研究部門に所属し、物構研副所長を務められていた足立伸一さんが、物構研を離れてKEKの理事に就任されました。放射光科学第一研究系・表面科学研究部門では、堀場弘司准教授が量子科学技術研究開発機構に異動され、組頭広志特別教授（東北大学教授）のクロスアポイントメントが終了しました。放射光科学第二研究系・構造生物学研究部門の研究員の米澤健人さんと阿久津誠人さんが、それぞれ奈良先端大学院大学、慶應義塾大学に異動され、量子ビーム連携研究センターの研究員の松本宗久さんが信越化学工業に転出されました。中性子科学研究系の助教の山田悟史さんが量子ビーム連携研究センターの准教授として着任されました。放射光科学第二研究系・材料科学研究部門の研究員の高木壮大さんと構造生物学研究部門の研究員の伊藤道俊さんが、日本学術振興会の特別研究員として採用され、引き続き物構研で研究を行います。また、構造生物学研究部門では、研究員として于宏洋さんと池田聡人さんが着任されるとともに、特別研究員として藤田雅也さんを受け入れました。量子ビーム連携研究センターの博士研究員として大下宏美さんとFAN, Dongxiaoさんが、それぞれ着任されました。また、野澤俊介准教授が放射光実験施設・測定装置部門から放射光科学第二研究系・材料科学研究部門に異動となりました。皆さんの今後の一層の活躍を期待しています。

はじめに

今回は二系の千田が担当です。以前 (Vol 36 (2018年) No. 2) に、クライオ電子顕微鏡 (クライオ電顕) の導入に関してお知らせしましたが、我々のクライオ電顕の運用も軌道にのり、KEKの構造生物学研究センター (SBRC) のクライオ電顕で測定したデータを利用した論文も出始めました。そこで、最近のクライオ電顕の運用状況や利用案内、そして今後の計画などについてこの場を借りてお知らせしたいと思います。

クライオ電子顕微鏡の運用状況

AMEDの支援により導入された加速電圧 200 kV のクライオ電顕 (Talos Arctica) は、2018年10月より以下3点をミッションとして運用してきました。

- ① アカデミア / 企業ユーザーにマシンタイムを提供 (年間 200 日以上を目指す)
- ② グリッド凍結 / データ測定を支援 (必要に応じて単粒子解析も支援)
- ③ クライオ電顕実験に関する技術導入を支援

①については、透明性と公平性の確保のため、全てのマシンタイムの利用と予定を web 上で公開し (<https://www2.kek.jp/imss/sbrc/beamline/cryoem.html>), 各グループに平均して月 1 枠のマシンタイムを配分しています。2020年度以降はコロナ禍の厳しい状況ですが、リモート実験の体制を立ち上げて2018, 2019年度と変わらぬ頻度で利用されています。②については、ほぼ全てのマシンタイムでグリッド凍結 / データ測定の支援を行い、データの質を判定するための Class2D までの解析や、必要に応じて論文掲載

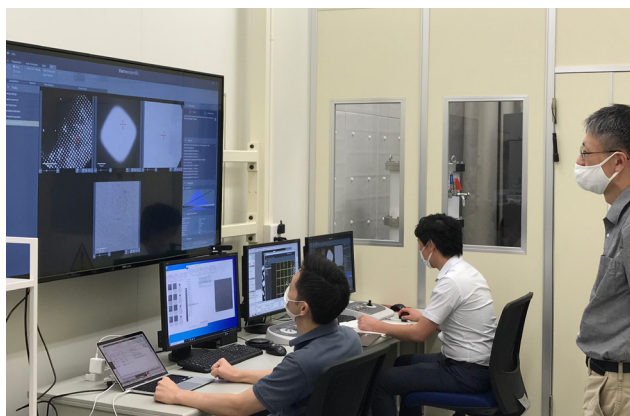


図1 クライオ電顕の測定風景。ユーザーに説明をしながら測定を行います。

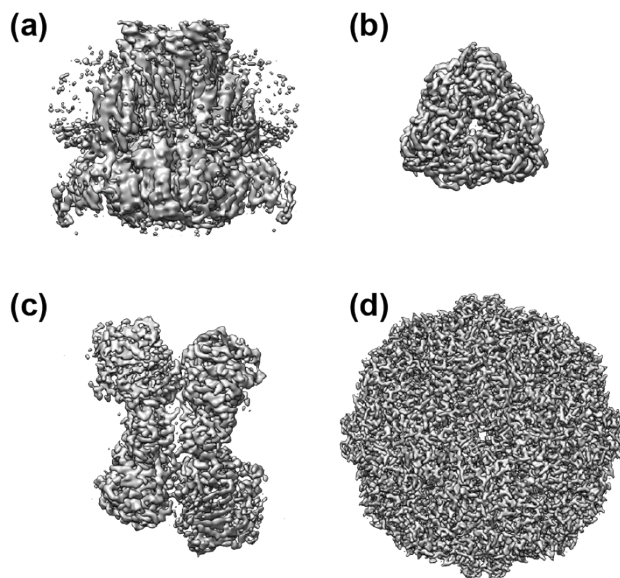


図2 SBRCのクライオ電顕で解析されたタンパク質の例。(a) hERG (Asai *et al. Structure*, 2021), (b) 亜硝酸還元酵素 (Adachi *et al. J. Struct. Biol.*, 2021), (c) FmoA3 (Katsuyama *et al. Angewandte Chemie Int*, 2021), (d) Sulfur oxygenase reductase (Sato *et al. J. Struct. Biol. X*, 2020)。これらのうち、いくつかはX線結晶構造解析とクライオ電顕の単粒子解析の両方で解析されています。

レベルの単粒子解析を行っています。③については、多くの専門家からのアドバイスを得てKEKが作成した操作マニュアルを web 上で公開するとともに、通算 14 回の初期トレーニングを実施して各グループへの技術導入を支援してきました (図 1)。単粒子解析についても解析環境の導入に関する相談や、解析講習会 (4 回) を開催してきました。これらの支援を通して、導入から 39 ヶ月で 5Å 分解能以上のマップを 50 件得ており、7 報の論文が出版されています [JSB-X (2020); Nature Commun (2020); Structure (2021); Angew. Chem (2021); NAR (2021); JSB (2021); NAR (2021)] (図 2)。さらに、必要に応じてクライオ電顕ネットワークの枠組みを利用して他施設の 300 kV クライオ電顕へのサンプルの受け渡しも行っており、東大・阪大などのスムーズな連携を実現しています。また、多くのユーザーは PF の結晶構造解析用ビームライン・小角散乱用ビームラインとクライオ電顕を併用し、相関構造解析を実施しています。加えて、海外のクライオ電顕の専門家による International Seminar (9 回) やエキスパート育成のための研究会 (5 回) も主催しています。以上のように、既存のクライオ電顕コミュニティから多大なサポートを受けつつ、安定した支援と高度化を遂行してきました。

クライオ電子顕微鏡の利用案内

KEK クライオ電顕の利用は、アカデミアユーザーは創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム事業（BINDS）の枠組みを通して、企業ユーザーは施設利用等の枠組みで利用可能です。担当スタッフとの打ち合わせ等を経て利用方法が確定し、メールでの調整によりマシンタイムが配分されます。オンサイト実験の場合は、午前中にグリッドを準備し午後は1枚1時間程度かけてスクリーニング測定を行います。18:00 ころからデータ測定（1日枠であれば終夜測定、週末の3日枠であれば週末測定）を開始して解散とします。測定したデータは翌日以降、KEK スタッフがユーザーのHDDにコピーし返送いたします。リモート実験の場合は、マシンタイム前日までにサンプルを郵送していただき、当日はzoomに接続してオンサイト実験と同様のスケジュールで実験を進行します。現地での実験はzoomなどでディスカッションしつつKEK スタッフが行い、午後はクライオ電顕の操作画面を共有してディスカッションしつつ良好なグリッドをスクリーニングしていきます。

今後の計画

ユーザーからの主な要望としては、①マシンタイムの増加、②共用の解析環境の構築、③高分解能データの収集、が挙げられます。①については、今年度に行われる検出器のアップグレードで撮影速度が約6倍となり、1日で高分解能の単粒子解析を目的とした測定が可能となるので、実質的なマシンタイムは増加する予定です。②については、パブリッククラウドでのクライオ電顕データの解析に特化した仮想計算機の立ち上げと、自動化による解析計算の簡便化などを進めています。これは、検出器アップグレードに伴う測定データの増加に対応した計算資源の確保にも活用されます。③について、現状では300 kV クライオ電顕を共同利用型の方法で運用している他施設への受け渡しで解決していますが、将来的にはKEKに300 kV クライオ電顕を導入し、高分解能データの収集をKEK内で迅速に実施することを目指しています。その他、小型グリッド凍結装置の開発や、microED（電子線単結晶構造解析）実験の共同利用体制の確立を行い、ユーザーのニーズに応えていく計画です。

人事異動

最後に、放射光科学第一、第二研究系に関する人事異動ですが、量子ビーム連携研究センター（CIQuS）の小野寛太さんが大阪大学大学院工学研究科物理学専攻に教授として転出されました。ただし、引き続きクロスアポイントメントでCIQuSに20%のエフォートは残ります。

はじめに

放射光科学第一研究系（表面科学研究部門，固体物理学研究部門）では，放射光を始めとする量子ビームを駆使して先端的な研究を行っています。今回はその一部として，現在実施中のPFのS型課題のうち，放射光科学第一研究系のメンバーが深く関わっているものを紹介します。もちろん，これらの他にも，G型課題や優先施設利用などのPF利用課題や理論計算を含めて様々な研究を行っていますので，今後，順次紹介していく予定です。

2019S2-003: 軟X線深さ分解 XAFS/XMCD 法によるスピントロニクス材料研究の夜明け

表面科学研究部門の雨宮が実験責任者です。軟X線領域の深さ分解 XAFS/XMCD 法は，雨宮や群馬大学の鈴木真粧子さん（物構研客員准教授）がPFにおいて世界に先駆けて開発してきた手法で，磁性薄膜の化学状態，磁気状態の深さ方向の分布を，ナノメートルを切る深さ分解能で元素選択的に観察できる，世界的に見てもユニークなものです。これまで，この手法を様々な磁性薄膜に応用し，磁気的性質の鍵を握る界面の観察への有効性を示すとともに，手法の高度化，測定・解析の効率化を進めてきました。このS2型課題は，磁性薄膜を用いたスピントロニクス材料の開発において革新的な成果をあげている研究者を結集し，深さ分解 XAFS/XMCD の応用を飛躍的に進めることによって，世界を先導する研究成果をPFから創出することを目的としています。スピントロニクス材料の機能発現においては，磁性薄膜の界面の状態が決定的な役割を果たしており，まさに深さ分解 XAFS/XMCD が威力を発揮する分野と言えます。さらに，最近開発に成功した磁場・電場中での深さ分解 XAFS/XMCD 法を駆使したオペランド測定を用いて，磁性薄膜の界面をより動作中に近い状態で観察することによって，次世代スピントロニクス材料の開発につなげることを目指しています。

2020S2-001: 有機エレクトロニクス材料開発のための構造物性

固体物理学研究部門の熊井玲児さんが実験責任者です。有機分子集合体の物性は，分子そのものもつ性質に加えて，分子間の相互作用によって大きく変化します。有機分子集合体は，それらが示す多彩な物性から，学術的な観点のみならず，近年では応用面でも注目されています。一方で，その集合様式の予測が容易ではないため，新規材料の探索における分子設計には大きな困難が伴います。このS2型課題では，新規材料探索のために，データ科学，計算科学と実験科学を融合させ，理論的に得られた構造・機能予測をもとに合成された材料の構造決定を行い，試料作

製および新たな分子設計へフィードバックします。また，得られた構造的知見を迅速にデータ科学・計算科学へフィードバックする体制を構築することを目指しています。このサイクルを効率よくすすめることで，新規有機エレクトロニクス材料の探索が加速することが期待されます。

2021S2-004: トポロジカル磁性体における位相欠陥と拡張多極子の動的構造可視化

物質・材料研究機構の山崎裕一さん（物構研客員准教授）が実験責任者で，固体物理学研究部門の中尾裕則さんと協力して実施しています。物質中の磁性と電気特性の結合は多彩な創発物性を生み出し，デバイス材料への応用が期待される機能の宝庫です。トポロジカル磁性体では実空間や運動量空間においてトポロジカル数で定義されるスピントクチャーが多彩な電磁応答を生み出すことが知られています。このS2型課題では，トポロジカル磁性体における創発物性を微視的な観点から解明することを目指しています。特に，高輝度な放射光軟X線のコヒーレント特性，可変偏光特性，エネルギー可変性といった特性を最大限活用し，トポロジカル磁性体に内在する位相（トポロジカル）欠陥や拡張多極子の動的構造可視化を通じて創発物性との相関に迫ります。具体的には，磁気スキルミオン運動の電流，光，熱流による制御・応答のオペランド計測，異常ホール効果（トポロジカルホール効果）における異方的磁気双極子項の役割，磁気スキルミオン格子の位相欠陥から発生する光渦検波と非平衡状態ダイナミクスの解明，磁性トポロジカル絶縁体やワイル磁性体のエッジやドメイン壁の電子状態観測などを行います。X線が光として有している特性を極限まで活用し，放射光でしか明らかにできない創発物性の未踏測定領域や新しい物性の解明を目指す課題です。

2021PF-S003: 軟X線領域のコヒーレンスを利用したイメージング手法の技術開発

最後に，PF-PACの課題ではありませんが，今年度新設されたPF-S課題（PFスタッフが申請でき，PFとしての重点研究の推進を目的とするもの）の一つとして採択された課題を紹介します。実験責任者は中尾さんです。軟X線領域のコヒーレンスを利用したイメージング手法は，まだまだ未開拓で，様々な可能性を秘めている測定手法です。このPF-S課題では，これまでにPFにおいて実証してきたコヒーレント軟X線回折イメージング，マルチスケール軟X線回折顕微鏡，軟X線ホログラフィといった手法に加え，結像型軟X線顕微鏡・トポロジカルナンバースイメージングなど，まだ試していない測定手法も含めた先端的な手法開発を推進し，PFらしい，「測定してみても初めて明らか

になるような発見」を目指しています。様々な測定手法を利用してより、観測対象にマッチした測定手法を明らかにすることができ、その後の利用展開に向けた重要な指針を得ることが可能になります。

はじめに

今回は放射光科学第二研究系の担当で、構造生物学研究センター (SBRC) が関わってきたプロジェクトと、それにより高度化されてきた結晶構造解析技術の変遷について書いてみたいと思います。現在、SBRCの活動の多くは BINDS 事業 (2017年度-2021年度) という AMED (日本医療研究開発機構) のプロジェクトによりサポートされています。BINDS 事業は、タンパク 3000 プロジェクト (2002年度-2006年度) から数えて4つ目の構造生物学分野のプロジェクトです。プロジェクトの変遷とともに生体高分子の構造解析の世界も大きく変わりました。クライオ電子顕微鏡の登場は、これまで結晶構造解析では手の届かなかった超分子複合体などの構造解析を現実のものとし、その勢いはとどまることを知りません。SBRCでも、クライオ電子顕微鏡のアクティビティは益々活発になっています。しかし、結晶構造解析のハイスループット性は、まだまだクライオ電顕の及ばないところで、創薬における放射光を用いた結晶構造解析の重要性は依然高いと言えます。そして構造解析技術も、この20年でプロジェクトの変遷とともに大きく進歩してきました。

閉じたプロジェクトから開かれたプロジェクトへ

構造生物学分野の大型プロジェクトの始まりはタンパク 3000 プロジェクトでした。当時は、タンパク質の立体構造の決定はまだ困難があったものの、放射光利用が軌道に乗り構造解析が以前に比べれば容易になってきた頃でした。それでもタンパク質の立体構造を3000個決定するというのは、相当に野心的なプロジェクトでした。この数値目標については国際的にも議論が巻き起こりましたが、このプロジェクトは日本において構造生物学を広く行き渡らせることに多大な貢献をしました。この頃は、検出器がイメージングプレートから CCD 検出器に置き変わりつつあったころでもあり、測定のスループットが数倍になっています。結晶構造解析の関門である位相決定に関しても、セレノメチオニン (タンパク質に通常含まれているメチオニンというアミノ酸の硫黄原子をセレンに置換したもの) 含有タンパク質を使う異常分散法が主力になりつつありました。放射光を使って最適な波長を選んで異常分散効果を最大化して測定をするのですが、位相決定はそれほど簡単ではありませんでした。それでも、重原子に結晶をソーキングして重原子同型置換体を作るという手法は徐々に使われなくなっていたと思います。2007年度には、タンパク 3000 プロジェクトを引き継ぐ形で、ターゲットタンパク研究プログラムが開始されました。このプロジェクトは構造の数ではなく、ライフサイエンスとして重要なタンパク質の構造解析を、いくつかの重点分野を決めて解析しよう

という構造生物学の本流ともいべきものでした。容易になってきた構造解析の技術を駆使して、このプロジェクトでは多くの重要な構造が決定されています。

ここまでは、構造生物学者と一部のライフサイエンス研究者によりプロジェクトが推進されるいわば“閉じた”プロジェクトでしたが、次の PDIS 事業 (2012年度-2016年度) からプロジェクトの性格が大きく変わり、一般の研究者に開かれた形になりました。つまり、2つの先行プロジェクトにより高度化された構造解析技術を使い、プロジェクトの実施者がプロジェクト外部の研究者 (特に構造生物学の専門家ではないライフサイエンス研究者) の依頼に応じて構造解析などを行うという形になったのです。構造生物の成果を一般のライフサイエンス研究者に広く使ってもらうというのがプロジェクトの大目標になったわけですが、同時に自動化やリモート化が以前に増して重要な高度化の課題になったのです。

PDIS および BINDS 事業と自動化、Native SAD 法の実現

PDIS 事業は、私が KEK に赴任した年に開始され、前任の若槻先生の後を引き継ぐ形でプロジェクトの推進に関わりました。この頃の構造解析技術はタンパク 3000 の頃と比べると非常に進歩していました。PDIS 事業が始まった頃には、セレノメチオニンを使った位相決定は容易になっただけでなく、硫黄原子のわずかな異常分散シグナルを使って位相決定する Native SAD 法のルーチン的な利用を目標として高度化を行うことが現実的になってきました。これには光源やビームラインの高度化とピクセルアレイ型の検出器 (PAD) の導入により大きく測定精度が向上したことに加え、長波長 X 線を用いた回折実験に最適化された BL-1A が稼働を始めたことが大きく貢献しています。測定の自動化も進み、多くの測定プロセスが自動で行われるようになるとともに、PAD の導入により測定の高速化 (シャッターレス測定が可能になりました) が進み、一定時間に収集できるデータ数が文字通り桁違いに増大しました。このことにより回折データの精度を統計的に向上させることが容易になりました。また、PDIS 事業では結晶のセンタリングが可能な全自動測定システムも完成し、全自動測定が通常のことになる一歩手前まできました。

PDIS 事業の後継である BINDS 事業になると、自動化やロボット利用はさらに進むこととなります。皮肉なことに、コロナ禍によりこれらの需要が大きく増えたことも事実です。現在では全自動測定やロボットを使ったりリモート測定は通常のことになっています。24時間寝ずにビームラインで奮闘しデータを測定していたのは過去の話です。現在の PF では、結晶を Unipuck という専用のカセットにセットしておけば、全自動で200セットほどの回折データを1

日で集めることが可能になっています。また、結晶整形装置（SPring-8 から移設）により結晶を整形した上で測定することで、結晶や溶媒による X 線の吸収を抑えることで極めて精度の高い回折データを収集することが可能になりました。その結果、Native SAD 法が通常の解析法になりつつあります。事実、SBRC 内ではセレノメチオニンを使った位相決定はあまり行われなくなってきました。また、分子置換法と Native SAD 法を組み合わせた MR-Native SAD 法も、迅速な位相決定と良質なモデル構築に大きな威力を発揮しています。このような高度化のおかげで、全自動で Native SAD 法に利用できるような高精度データ測定が可能になっただけでなく、測定に続く構造解析までを AI なども活用して全自動で行う目処も立ってきました。結晶構造解析の完全自動化は夢ではなくなってきましたので、ますます多くのライフサイエンス研究者が結晶構造情報を使えるような未来が来るはずですし、それを目指して高度化を進めています。

人事異動

最後に放射光科学第一、第二研究系に関する人事異動です。12/16 付けで Kim Youngmin さんが研究員として採用されました。また、12/31 付けで、武市泰男さん（大阪大学大学院工学研究科、助教）、千田美紀さん（筑波大学医学医療系、研究員）が転出されました。新しい職場での活躍を祈念いたします。