

# 放射光科学第一、第二研究系の現状

放射光科学第一研究系研究主幹 雨宮健太  
(2024年4月30日付け)

## はじめに

今年度は3年に一度、KEK全体の体制が更新される年にあたります。放射光科学第一研究系は私が、第二研究系は千田俊哉さんが、引き続き研究主幹を務めます。また、構造生物学研究センター、量子ビーム連携研究センターについても引き続き、千田さんと私がそれぞれセンター長を務めます。改めて3年間よろしくお願ひいたします。さて、放射光科学第一、第二研究系は放射光をはじめとする量子ビームを駆使して、先端的な物質・生命研究を行うことを主なミッションとしています。2023年度第3号のPFニュースでは、表面科学研究部門のメンバーが中心となって実施しているマルチプローブ利用研究を紹介しましたので、今回は固体物理学研究部門におけるマルチプローブ利用研究をいくつか紹介します。

## 多彩なスピン構造の間のトポロジカル数スイッチングの観測

磁気スキルミオンは電子のスピンが渦巻き型に配列しているためにトポロジーによって保護されて粒子としての性質を有しています。その大きさは数～数百ナノメートルと非常に小さく、いわゆる磁壁と比べると非常に小さな閾値電流によって駆動できることから、これまでの磁気メモリに比べて超高密度・超低消費電力の新世代磁気記憶・演算デバイスへの応用が期待されています。東大の吉持氏らは、

正方格子構造を有し空間反転対称な希土類合金  $\text{GdRu}_2\text{Ge}_2$  に着目して研究を行い、積層方向に外部磁場をかけていくと多段階に磁気構造が相転移することを見出しました（図1）。その中でも II, IV と呼ばれる2種類の磁気相はホール抵抗率に増大が生じることから大変興味深く、磁気スキルミオン格子の形成によるトポロジカルホール効果が生じていると考えられます。そこで、J-PARC MLF の HRC (BL12) において短波長中性子散乱実験を、フォトンファクトリーの BL-3A において共鳴X線散乱実験を、協奏的に実施することによって、ミクロなスピン配列を直接的に観測しました。その結果、II 及び IV の磁気相においては、直径 2.7 ナノメートルのスキルミオンが格子を組んだ状態で安定化していることが明らかになりました。また、本物質では外部磁場に応じて多段階の磁気構造相転移が生じており、特に II, III, IV の磁気相では、「楕円形スキルミオン」や「メロン - アンチメロン分子」、「円形スキルミオン」といった多彩なトポロジカルスピン構造が実現することが明らかになりました。この成果は極小サイズのスキルミオンに関する新たな物質設計指針を与えるとともに、外部磁場による多値メモリ動作といった新しいデバイス応用の可能性を示しています [H. Yoshimochi *et al.*, *Nat. Phys.* (2024), プレスリリース：<https://www.kek.jp/wp-content/uploads/2024/04/pr20240401.pdf>]。

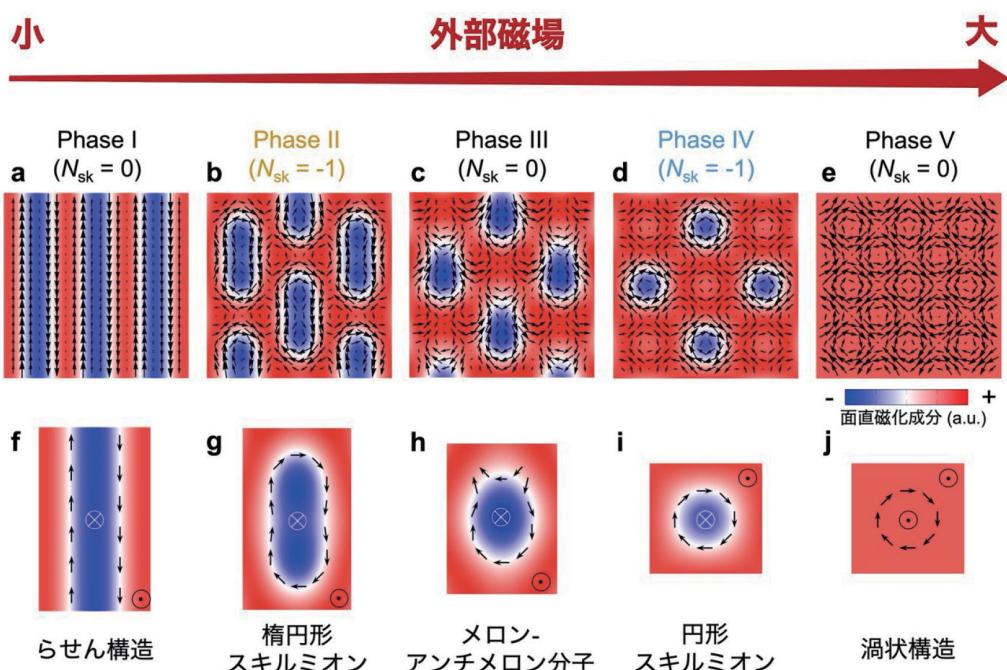


図1 希土類合金  $\text{GdRu}_2\text{Ge}_2$  における各磁気相における磁気構造 (a-e) および、それぞれのスピン構造についての概念図 (f-j)。 $N_{sk}$  はスキルミオンを特徴付けるトポロジカル数であり、スキルミオンおよびアンチスキルミオンは整数値、メロンとアンチメロン半整数値になる。

## 広い波長領域での共鳴X線散乱研究

マルチプローブ利用というと、放射光と中性子のような異なる量子ビームを使った研究がよく取り上げられます。同じ放射光でも波長によって、あるいは測定手法によって、異なる側面からの情報が得られます。ここでは広い意味でのマルチプローブ利用研究として、PFの複数ビームラインにおいて、実験装置も変えつつ測定した例を紹介します。この研究では共鳴X線散乱(RXS)を用いました。RXSは、回折・散乱の空間相関の観測とX線吸収分光やX線磁気二色性(XMCD)といった電子・磁気状態の観測を組み合わせた手法で、吸収端を選択することで、元素・軌道選択的にこれら電子・磁気状態の秩序構造の決定ができます。したがって、観測したい元素・軌道が決まるとき、その吸収端エネルギーでの実験が必要となり、広い波長領域での実験が必須になります。

以下に、金属絶縁体転移( $T_{\text{MI}} \sim 63 \text{ K}$ )を示す  $\text{PrRu}_4\text{P}_{12}$  のRXS研究の例を示します。絶縁化の起源を明らかにするために、構成する元素ごとの吸収端エネルギーで測定した100反射強度のエネルギー依存性を図2に示します。硬X線の $\text{Pr L}_3$ 端はBL-3Aで、軟X線の $\text{Pr M}_{4,5}$ 端はBL-16Aで、軟X線でも比較的エネルギーの高い $\text{P K}$ 端、 $\text{Ru L}_3$ 端はBL-11Bで測定した結果です。非共鳴信号強度で規格化

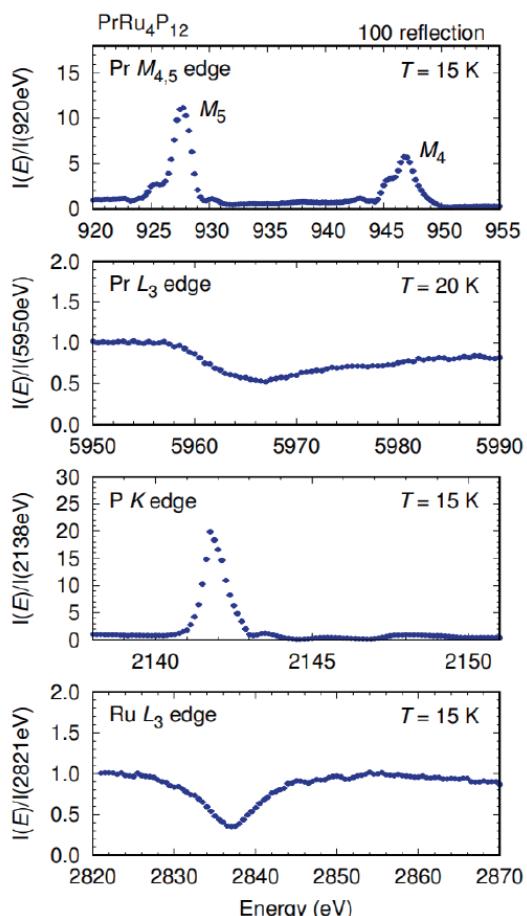


図2  $\text{PrRu}_4\text{P}_{12}$ に対して元素ごとの吸収端エネルギーで測定した100反射強度のエネルギー依存性。

した散乱強度は、 $\text{Pr M}_{4,5}$ 端、 $\text{P K}$ 端で10を超える、絶縁化の背後に $\text{Pr}$ の4fとPの3pの変調構造の出現があることが一目瞭然です。

この系の研究が始まった頃には軟X線用の回折計はなかったため、強い共鳴信号が得られない $\text{Pr L}_3$ 端の測定のみで、相転移の起源をめぐって議論が行われていたことは感慨深いものがあります。なお、この広い波長領域を利用したRXS研究は、放射光34, 55(2021)に紹介されていますので、興味があればご覧ください。

このような広い波長領域を利用した研究は、PFの次期計画であるPF-HLS(PF Hybrid Light Source)のSRシングルビーム実験に相当します。ここで紹介した実験は、BL-11Bでの測定後、回折計に試料が入ったままBL-16Aに移動して実験した結果です。次期光源を見据えて今からできる実験の可能性は数多くあり、ユーザーの方々と協力して実験をすることで、当初予想もしなかった成果が得られる信じています。

## 有機強誘電体の構造とダイナミクス

誘電性は磁性・導電性と並ぶ重要な物性のひとつであることから、基礎科学的な観点はもとより、不揮発メモリやセンサー、アクチュエーターなど広範な用途をもち、応用的な侧面でも興味を持たれています。現在、電子、光学、機械デバイスなど、強誘電体の応用は、セラミックスをはじめとする無機材料が中心です。特にPZT(チタン酸ジルコン酸鉛)やチタン酸鉛などは、有害な鉛を高い濃度で含みながらも、その特性の高さゆえに幅広く用いられています。一方、軽元素のみからなる有機強誘電体は、有害元素を含まず、軽量かつフレキシブルという従来の材料にない特徴をもち、新たな誘電体材料としての利用や、純有機デバイスの開発の上で注目されています。また、非鉛系誘電体の開発でしばしば用いられる稀少元素を含まない有機材料は環境調和・省資源といったSDGsの観点からも開発が急務となっています。

分子性有機物と強誘電体の関わりは1920年代のロッセル塩(酒石酸カリウムナトリウム)に端を発しますが、チタン酸バリウムの発見以降、無機材料による強誘電体の開発が盛んに行われ、その後有機材料による誘電体の発見例は少数にとどまっています。我々は、水素結合系超分子集合体や、電荷移動錯体などを用いた新たな誘電体設計指針に基づき、有機強誘電体の開発を行ってきました。これら新規の強誘電体では、分子そのものは極性を持たないものの、集合化によってはじめて誘電性を示すもの多く、その結晶構造は分極の起源を解明する上で必須といえます。なかでも水素結合系強誘電体とよばれる物質群では、X線(放射光)による精密構造解析に加え、水素の原子核であるプロトンの位置を正確に決めることができる中性子構造解析を相補的に利用することでその全体像を捉え、より正確な構造情報を得ることができます[R. Kumai *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 129, 12920 (2007)]。

一方、極性をもつ分子あるいは置換基が回転することに

よって分極反転を示す強誘電体も数多く知られています。置換基や分子自身がもつ大きな極性を利用してることで、従来広く用いられていた高分子材料による強誘電体よりも大きな分極を示すものも近年報告されています [S. Horiuchi, R. Kumai, S. Ishibashi, *J. Mater. Chem. C* **9**, 13739 (2021)]。これらの中でも、TAPA(tris(4-acetylphenyl)amine)という物質は、キュリー温度(408 K)以下ではアセチル基が秩序化しているため、結晶全体に極性を持ち、電場によって置換基が回転することで分極の向きが反転して強誘電性を示すと考えられます。キュリー温度と同時に構造相転移が起こり、置換基が無秩序化して極性を示さない構造となっていることが放射光を用いた結晶構造解析からわかっています。最近、ミュオンを用いたこの物質の観察を行いました。水素の軽い同位体とみなせるミュオニウムがアセチル基近傍に一時的に安定に位置できることを利用して、ミュオンスピン回転( $\mu$ SR)シグナルの温度変化から、転移温度以下の350 K近傍から置換基が大きな揺らぎを示すことが明らかになりました [J.G. Nakamura, R. Kumai, R. Kadono *et al.*, submitted]。放射光とミュオンを相補的に利用することで、静的な構造と動的な性質の解明に迫ることができ、他の系への適用も今後検討しています。

### 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。4/1に、構造生物学研究部門の研究機関講師の山田悠介さんが東北大学に准教授として、研究員の長瀬里沙さんが農林水産省に、KEK 日本学術振興会特別研究員の藤田雅也さんが長岡技術大学に助教として、それぞれ異動されました。また、材料科学研究部門の特任助教の深谷亮さんが東京大学に特任助教として異動されました。所内の動きとしては、量子ビーム連携研究センターの博士研究員の大下宏美さんが放射光実験施設運営部門の特別助教として、FAN Dongxiao さんが材料科学研究部門の研究員として、それぞれ採用されました。材料科学研究部門の特任教授の山本樹さんは、研究員として引き続き研究を継続されます。新規採用としては、量子ビーム連携研究センターの博士研究員として三木宏美さんが、材料科学研究部門のKEK 日本学術振興会特別研究員として吉田一貴さんが、それぞれ4/1に着任されました。なお、三木さんは5/1に中性子科学研究系の特別助教として採用されます。

# 放射光科学第一、第二研究系の現状

放射光科学第二研究系研究主幹 千田俊哉  
(2024年7月26日付け)

## はじめに

今回は放射光科学第二研究系の担当です。今回は、構造生物学分野におけるAI利用に関する話題を取り上げます。Alpha Fold (AF) が発表されて以来、大きな変化が起きている構造生物学ですが、最近は一般でも様々なAIツールが利用できるようになってきているので、これらに関する話です。

## AIと構造生物学

構造生物学の分野ではX線結晶構造解析が長らく中心的な位置を締めていましたが、10年ほど前にクライオ電子顕微鏡（クライオ電顕）が登場し、その適用範囲が大きく広がるとともに分野にも大きな変化が現れました。ところが、2020年にDeepMind社が開発したAlpha Fold2 (AF2) が登場し、さらに大きな変化が起きています。新聞やネットなどでもしばしば報道されているので、分野外の方でもご存知の方はいらっしゃると思いますが、簡単に説明すると、AF2（現在は、Alpha Fold3 が出ています）はタンパク質の立体構造をアミノ酸配列だけから高精度に予測することが可能な三次元構造予測アルゴリズムです。高精度の立体構造予測が可能なことから、登場当時は構造解析の分野に大きな衝撃が走ったわけです。もちろん、予測構造は予測構造ですから実験的に決定された構造とはその意味合いは違うとは言うものの、構造を利用するという立場からすれば、予測構造で十分な場合も多くあるわけです。もちろん、構造予測の精度が上がったから実験的な構造決定が不要かというと、そういう訳ではありませんし、かといって予測構造は予測構造でしかないなどと軽視するのも適切ではないでしょう。

現在では、AF2を利用することが構造解析分野でも一般的になりつつあります。特に結晶構造解析における分子置換法では、AF2の予測構造を用いて実験的な3次元構造の決定を迅速化するような手法も一般的になっています（このことからも、その精度の高さが窺い知れると思います）。またクライオ電顕の単粒子解析におけるモデリングでもAF2のモデルは積極的に使われています。更にAF3においては、複合体の予測も可能になったということで、ますますAIの果たす役割が大きくなっています。もちろん、これらの優れた結果はAIの進歩や優れた手法を適用していることに依存しているわけですが、タンパク質データバンク（PDB）の蓄積なくしては達成できなかったのも事実です。このことから、構造解析に関わる我々は、自分たちのデータがどのように利用されるかを以前にもまして真面目に認識する必要があります。PDBに登録される構造データは、AFだけでなく多くのAIツールにおいて教師データとして使用されているわけですから、正確で信頼

性の高いデータを提供することが求められます。質の高いデータを提供することでAIの予測精度も向上し、さらなる科学的発見が期待できるはずです。構造生物学研究センターでもAIを積極的に利用して高効率かつ高信頼性の解析システムを構築したいと思っています。

さて、AF2の登場は構造生物学における重要なマイルストーンではありますが、他のAI技術も次々と現れ、研究現場に大きな影響を与えています。例えば、生成AIや大規模言語モデルの顕著な進歩により、我々のデータ解析や研究結果のまとめをサポートすることが可能になりました。これらを利用することで、研究論文の自動要約やデータの可視化、複雑なデータセットの解析も可能となり、研究効率を大幅に向上させることもできるでしょう。かく言う私も、とあるAIサービスが過去の構造解析プロジェクトのノート（Word文書にして200ページ程度のもの）を見事に時系列でまとめてくれることを見出し、衝撃を受けると共に非常に大きな変化を感じています。現在、オープンサイエンスが一つの掛け声になっているわけですが、これがAIと結びつくことによって新しい形の共同研究の形が生まれることになるでしょう。単に結果を蓄積するだけでなく、それらに付随するメタデータの重要性も大きくなっています。その結果、研究者の仕事を効率化、高精度化するのみならず、我々の実験の記録の方法も、単なる個人の記録からある程度の一般性を持った記録へ変えていく必要があることを示していると思います。

このように急速に進歩したAIですが、その利用に関して研究者がどのようにAIと向き合えばよいのかも大切で、既に議論は始まっています。数年前、筆者が出席したライフサイエンスの国際誌のEditor会議でも、研究論文作成にAIを利用することに関して議論がなされました。しかし、現在では一般人が利用できるAIの性能ですら当時の予想をはるかに超えていますし、利用範囲やアクセスが大幅に改善されており、考えるべきことが既に数年前とは大きく異なっています。議論のスピードが技術進歩に追いついていない状況かと思います。特に、ライフサイエンス分野では、膨大なデータが日々生成されており、これを効率的かつ統合的に解析するためにはAIの利用が不可欠で、もはや特別な技術ではなくなります。今後も新しい技術が大変な勢いで現れてくることが予想されます。

このように、AIの利用が急速に広まっていますが、AI時代における若手の教育を含め考えないといけないことが山積みです。今後、ユーザーの皆様との意見交換しながら、適切な利用環境を整えていきたいと考えています。今回はAIに関して色々と雑駁なことを書きましたが、サイエンスを進めるに当たってお互いが顔を合わせて議論することの重要性も非常に強く感じていますので、なるべく直

接の意見交換を積極的に行っていきたいと考えています。

### **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。第一研究系では、6月7日付けでDEY Sourav Kumarさんが退職され、7月1日付けで特任准教授の阪田薫穂さんが准教授に採用されました。第二研究系では、5月31日付けでFAN Donxiaoさんが退職され、7月16日付けでパデュー大学より中村司さんがSBRCに研究員として採用されました。新しい環境での活躍を祈念いたします。

# 放射光科学第一、第二研究系の現状

放射光科学第一研究系研究主幹 雨宮健太  
(2024年10月22日付け)

## はじめに

放射光科学第一、第二研究系は、放射光をはじめとする量子ビームを駆使して、先端的な物質・生命研究を行うことを主なミッションとしています。特に、確立された実験手法を利用するだけではなく、放射光施設に常駐するスタッフとしてのメリットを活かして、研究のために必要な新しい実験手法の開発も行うことで、PFならではの研究を展開しています。今回は、放射光科学第一研究系の表面科学研究部門における最近の研究の進展を紹介します。

## 水分解電極触媒における電気化学反応中の表面の観察

環境負荷の低いエネルギー源として期待される水素を製造する方法の一つとして、電極触媒を用いた水の電気分解が盛んに研究されています。水の電気分解においては、酸素発生電極が性能のボトルネックになっており、その反応過程には不明な点が多いため、電気化学反応中の酸素発生電極触媒の表面を直接観察することが求められています。我々が独自に開発した軟X線領域の波長分散型吸収分光(XAS)法は、波長分散した(位置によって波長=エネルギーが連続的に変化する)軟X線を試料に照射し、吸収強度に比例して放出される蛍光X線を位置分解して検出することで、3~10秒ごとにXASデータを取得できる手法です[K. Amemiya et al., Rev. Sci. Instrum. **91** (2020) 093104]。この手法を、溶液を用いた電気化学反応システムと組み合わせ、溶液と真空(軟X線の入射、検出側)を厚さ200 nmのSi<sub>3</sub>N<sub>4</sub>膜(溶液側に電極と触媒を成膜したもの)で仕切ることによって、電気化学反応中(電位の掃引中)のリアルタイム・オペランドXAS観察を実現しました。この手法を用いて、薄膜電極上に担持したCo酸化物に対して、電位掃引によって起こる酸素発生反応を酸素K吸収端XASを用いて観察しました(図1)。その結

果、529 eV付近の吸収ピークが、酸素発生が始まる直前の電位において増加し、さらに電位を上げると減少することが観察されました。この挙動から、観察されたピークは反応中間体に由来するものと考えられます[K. Sakata and K. Amemiya, Electrochim. Commun. **157** (2023) 107627]。さらに最近、この手法を酸素発生用の光触媒の一つであるTiO<sub>2</sub>に適用し、UV光照射によって酸素発生が促進されること、およびUV光の有無によって酸素K吸収端XASに現れるピークとその電位依存性が大きく異なることを見出しました[K. Sakata and K. Amemiya, Electrochim. Commun. **165** (2024) 107771, プレスリリース: <https://www.kek.jp/ja/press/202407251400>]。今後、様々な電極触媒に適用とともに、反応速度を含めた定量的な解析を行い、反応機構をより詳細に明らかにしていきたいと考えています。

## ステンレス鋼の化学状態の深さによる変化の分析

ステンレス鋼は、その名の通り錆びにくいうことが特長で、その耐腐食性の起源について様々な研究がされてきました。我々は、約20年前から独自に開発を行ってきた、軟X線領域の深さ分解XAS法[K. Amemiya et al., Appl. Phys. Lett. **84** (2004) 936]を用いて、ステンレス鋼における主な構成元素(Fe, Cr, Mn, Ni, O)に対して、化学状態の深さ依存性を観察しました。深さ分解XAS法はもともと、軟X線の吸収量に比例して放出されるAuger電子を、様々な出射角で検出することで、様々な検出深度のスペクトル群を得る手法として開発されました。試料中に発生したAuger電子は、表面に到達するまでに指數関数的に減衰しますが、斜出射条件になるほど長い距離を通る必要があるため、吸収が起きた深さによる減衰の違いが顕著になり、より表面付近の状態を反映したXASデータとなります。ただし、Auger電子の減衰長(強度が1/eになる距離)は2-3 nm程度なので、たとえ直出射で検出しても、せいぜい10 nm程度の深さまでしか観察することができません。ステンレス鋼の化学状態は、より深いところまで変化していることが予想されるので、本研究ではAuger電子の代わりに蛍光X線を検出しています。蛍光X線の減衰長は100 nm以上があるので、深さnmから数10 nmにわたる広い範囲を観察できます。解析の結果(図2)、表面付近でCrが特に酸化されていることや、その中でも水酸化物成分がより表面側に多いことが明らかになりました。一方で、Feも表面付近で酸化されているものの、酸化の度合いはCrよりもかなり低いこと、NiやMnは観察した深さの範囲では化学状態に大きな変化が見られない(Niはほとんど酸化されず、MnはMnO<sub>2</sub>に近い)ことも観察されました[K. Amemiya and K. Sakata, ACS Omega **9** (2024) 18593]。現在、腐食過程(自然酸化、熱酸化、溶液中での電気化学的腐食など)に

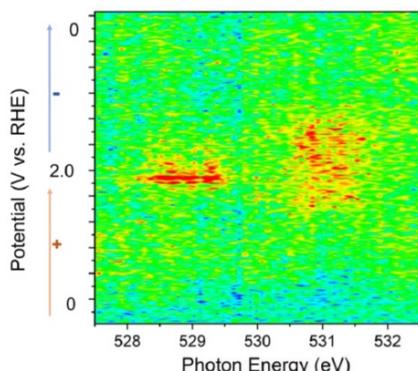


図1 電位の掃引にともなう酸素K吸収端XASの変化  
(掃引開始前のスペクトルとの差分をカラーマップで示した)。

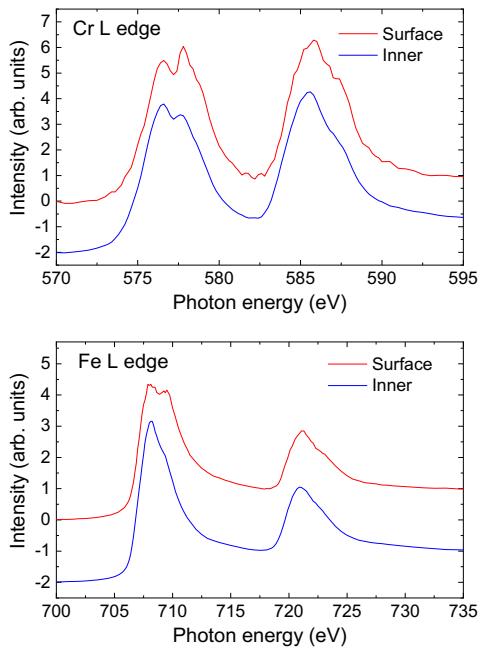


図2 深さ分解XASの解析によって得られた、表面層（厚さ3 nm程度）および内部層に対するCrおよびFe L吸収端XAS。

より化学状態の違いも含めて分析を行っています。これまで深さ分解XAS法は、主に磁性薄膜など比較的フラットな表面に対して、nmを切るような深さ分解能での分析に適用してきましたが、今後は実材料のステンレス鋼のように、比較的ラフネスの大きい試料に対して、より粗い深さ分解能での観察も行っていきたいと考えています。

### 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。10/1に、構造生物学研究部門の特任准教授の田辺幹雄さんが准教授として採用されました。また、固体物理学研究部門の准教授の中尾裕則さんが、放射光実験施設測定装置部門の部門長として教授に昇任しました。お二人とも、PFでますます活躍されることを期待しています。

# 放射光科学第一、第二研究系の現状

放射光科学第二研究系研究主幹 千田俊哉  
(2025年1月24日付け)

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、今後の行方に関し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、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。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、セレノ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なため、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と行われました。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きました。SAD法では理論的には一位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でも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、主にセレノ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線を使っ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、セレノ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できます。ユーザーの皆様には是非一度試してみてもらいたいと思います。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ます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が、あっ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すが、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プでくつて凍らせてることなく、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动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ります。*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ての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い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日付で研究員として Simon Miller 氏が、また、同12月16日付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。