

# アンジュレータ放射光による真空紫外～軟 X 線領域 における自然二色性研究

産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門 田中 真人\*

Natural circular dichroism (CD) measurements in the energy regions from vacuum ultraviolet to soft x-ray need the polarizing undulator as a light source. We have developed the CD measurement system in these energy regions by using the polarizing undulator and successfully observed the CD spectra of biomolecules at the first time.

**Keywords:** synchrotron radiation, vacuum ultraviolet, soft x-ray, amino acid, chirality

## 1 はじめに

自然円二色性 (Natural circular dichroism; CD) はキラル物質の高次構造を敏感に反映することから、タンパク質の二次構造解析、有機分子のキラリティの決定など、特にライフサイエンス分野における重要なツールの一つとして広く利用されている。

CD は文字通り円偏光の左右での色の違い、すなわち吸収係数の違いのことであり、その計測のためには検出光を円偏光にし、かつその左右を変化させることが不可欠である。例えば赤外～紫外の領域での市販の CD 分光計や放射光を用いた真空紫外域 CD 計測ビームラインでは、透過型の光学素子 (直線偏光子ならびに光弾性変調子) を用いて、円偏光状態の光を発生させ、かつ高速 (約 50 kHz) でその左右を変調させている。このような透過型の光学素子を用いる場合、その計測波長範囲はその素子の透過範囲で決定される。一般的に真空紫外域では最

短 140 nm 程度までが透過型素子の限界であり、これより短波長の真空紫外、極紫外、軟 X 線といった波長領域では有効な透過型素子は今のところ無いといってよい。(ただし、固定波長なら軟 X 線領域でいくつかの透過型素子が開発され、偏光度計測に利用されている<sup>1)</sup>。また硬 X 線領域ではダイヤモンド位相子を用いた磁性体の CD 計測が行われている<sup>2)</sup>。)

しかしながら多くの生体分子は真空紫外や軟 X 線領域にも特徴的な吸収を示す。これら領域でも CD を計測することによって、より高精度なタンパク質構造解析や従来装置では対象外であった  $\sigma$  結合しか有しない糖・糖鎖などの生体関連物質の構造解析が期待されている。

これらのエネルギー領域で円偏光を発生させる装置として、現状最も有用なのは放射光挿入光源の一種である偏光アンジュレータである。この場合、光源部で偏光を発生させるために、原理的に如何なる波長においても CD を計測することが可能である。

筆者らは偏光アンジュレータを円偏光光源とすることで、真空紫外から軟 X 線に渡る領域で世界初の生体分子の CD 計測に成功してきた。本稿では上記成果に関して真空紫外～極紫外域と軟 X 線域とに分けた簡単な紹介を行う。

## 2 真空紫外～極紫外域における CD 計測装置とその応用例

真空紫外から極紫外域 (最短波長 40 nm 程度) に対応した CD 計測システムを産総研つくばセンターの電子蓄積リング TERAS のビームライン BL5 にて開発してきた<sup>3-5)</sup>。その詳細は直近の当会誌にて報告しているので、そちらをご覧ください<sup>6)</sup>。このビームラインでは直交磁場型 (小貫型) 偏光アンジュレータが利用できる<sup>7)</sup>。このアンジュレータ (図 1 参照) は全長 32 cm (周期長 8 cm  $\times$  4 周期) と非常に小型であり、そのため磁石列を機械駆動させることで左右円偏光 (および鉛直水平直線偏光) を通常 2 Hz で変調発振することができる。

Natural Circular Dichroism Study in the Energy Regions from Vacuum Ultraviolet to Soft X-ray by using Polarizing Undulator Masahito TANAKA\* (Research Institute of Instrumentation Frontier, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)).

〒305-8568 茨城県つくば市梅園 1-1-1 つくば中央第 2,  
TEL: 029-861-5199, FAX: 029-861-5683,  
E-mail: masahito-tanaka@aist.go.jp

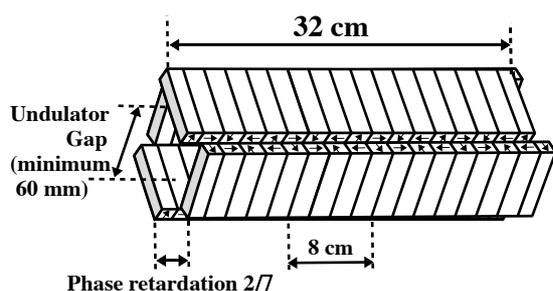


図1 産総研 TERAS の小貴型偏光可変アンジュレータの概要図。

分子のキラリティに起因する CD 信号は一般的に吸収の 1% 以下の微小な信号である。このような信号を正確に計測するために、本ビームラインではアンジュレータ磁石列の駆動によって左右円偏光を変調させ、ロックインアンプ等を用いて変調信号検出を行うシステムを構築している。様々な要素技術の開発から CD スペクトルの計測に充分な 0.01% という計測感度を実現した。これによって、世界初の極紫外域（最短波長 40 nm）に渡った生体分子（アラニン）の CD 計測<sup>8,9)</sup> や脂肪族アミノ酸の側鎖の影響を明らかにすること<sup>10)</sup> などに成功している。

### 3 軟 X 線域における生体分子の CD 研究

X 線領域で偏光アンジュレータを用いた CD 研究のバイオニアは European Synchrotron Radiation Facility の Goulon らのグループである。彼等は主に硬 X 線領域でキラリな点群に属する結晶の CD 計測とその理論予測に成功してきた<sup>11)</sup>。我々は彼らの成功と先行して研究が進んでいたアミノ酸の CD 理論計算の報告<sup>12)</sup> とを足がかりとして、この研究に道を進めることとした。

軟 X 線 CD の最初の計測は SPring-8 BL23SU にて達成された。このビームラインは当時は APPLE-II 型アンジュレータが備えられており、磁石列の駆動により左右円偏光を 0.1 Hz 程度で切り替えて CD 計測を行った。この際磁石列の切替によるビーム軌道の変動の影響を最小限に抑えるために、アンジュレータ前後の補正電磁石による軌道補正法を当該ビームラインスタッフに開発していただいた<sup>13)</sup>。また軟 X 線照射による試料ダメージを回避するために、試料の照射部位を変えても同一な計測が可能なる程に均一な薄膜試料の作成も行った。

研究開始当初はまだ産総研での真空紫外 CD 計測装置

開発も始まっておらず、我々の CD 計測における知識も少なかったため、本計測の困難さを過小評価していた。そのため例えば左円偏光で吸収スペクトルを計測し、右円偏光に変えてまた吸収スペクトルを計測し、それらの差分をとるなどの強度の強い磁気円二色性計測では行われている手法などを用いて生体分子の CD 計測を試みていたが、結果は全て失敗に終わった。

その後、SPring-8 スタッフの御尽力で各エネルギー点での円偏光切替などが可能になり計測精度が大幅に向上し、試料の最適化なども進めていくことで初めて図 2 に示すような CD スペクトルの計測に成功した<sup>14,15)</sup>。これはセリンというアミノ酸薄膜の酸素 K 殻領域での結果である。例えば 540 eV 付近のピークでは L 体の CD は正、D 体の CD は負などといった L 体、D 体間で上下対称のスペクトル形状を本結果は示している。この対称性は観測した CD スペクトルの正当性を証明している。また 540 eV 付近の信号は側鎖の OH 基の酸素由来、533 eV 付近の信号は主鎖の COO<sup>-</sup> 基の酸素由来の信号であり、このように観測原子を選択して CD 計測することに成功した。

この結果を得るのに SPring-8 のマシンタイムが限られていたとはいえ、3 年以上を費やした。真空紫外域で用いている変調信号検出はこのシステムではアンジュレータ切替周波数の不安定さゆえに適用できなかったため、左右円偏光時の吸収を直接減算する直流法と呼ぶ方法を用いて計測した。一般的に直流法は感度が良くないが、それでも 0.1% 程度の CD ピークを検出できたのは SPring-8 のビームの安定性によるものが大きいと思われる。

現在は実験ステーションを同じく SPring-8 の BL25SU に移して実験を進めている。このビームラインは直列配置された 2 台のヘリカルアンジュレータの磁石列をそれぞれ左円偏光、右円偏光状態に固定しておき、電子ビームの軌道をキッカー電磁石で動かしてどちらのアンジュレータの中心に電子を通すかによって、左右円偏光を切り替えることができる<sup>16)</sup>。最大 10 Hz までの切り替えが可能であるが、安定動作できる 1 Hz で実験を主に行っている。計測手法は BL23SU と同様に直流法を用いているが、交流検出法の導入も現在進めている。このビームラインでアラニン、アスパラギン酸など様々なアミノ酸薄膜の酸素 K 殻領域における CD 計測に成功し、特に COO<sup>-</sup> 基の O1s → π\* 遷移に対応するピークに違いが見られてくることなどを明らかにしてきた<sup>17)</sup>。近年我々の実験結果を基にした軟 X 線 CD の理論計算の報告もなされており、さらなる軟 X 線 CD の理解が深まるものと期待される。

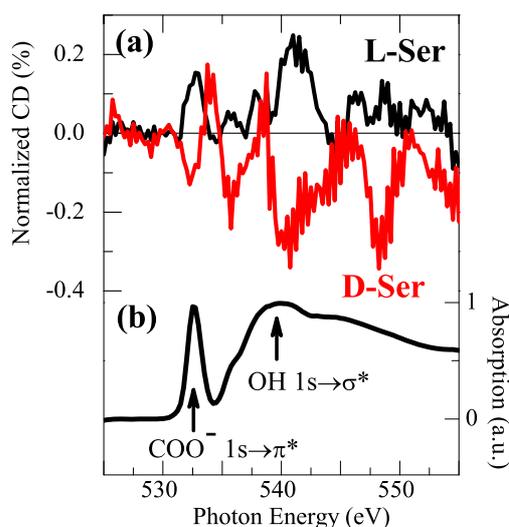


図 2 セリン薄膜の酸素 K 殻領域における (a)CD スペクトル (黒線; L 体, 赤線; D 体), (b) 吸収スペクトル<sup>10)</sup>

#### 4 まとめと将来展開

このように従来の透過型素子の利用では計測できない真空紫外から軟 X 線域において、偏光アンジュレータ放射を活用することで世界初の生体分子の CD 計測に成功した。今後、真空紫外域では CD による薬品のスクリーニングなどが可能なハイスループットな装置を構築するとともに、理論計算との比較等を組み合わせることで CD を様々なキラル物質の構造解析ツールとして確立させていきたいと考えている。軟 X 線域ではタンパク質等の生体高分子の計測という次の段階に駒を進めていくとともに、より短時間で高精度な計測を可能にするためのシステムづくりなどが必要である。今後更に多くの知見を蓄積していくことが、軟 X 線 CD の理解と応用を進めていく上で不可欠である。

#### 5 謝辞

本受賞に至った研究成果の獲得は決して私一人の力のみで達成したものではなく、多くの方々の御尽力や御指導によって成されたものであることをここに明記させていただきます。

産総研 TERAS における真空紫外～極紫外域での CD 計測装置開発ならびに世界初の極紫外域での CD 計測

は産総研・渡辺一寿博士、山田亨博士の御力添えの元で行ったものです。また TERAS の運転に関しまして、豊川弘之博士をはじめとする産総研電子加速器関係者の方々の御助力に感謝するとともに、当所のアンジュレータ開発の基礎を構築されました小貴英雄博士に深く敬意を表します。

SPring-8 において成功した軟 X 線 CD スペクトル計測に関しまして、日本原子力研究開発機構・横谷明德博士、安居院あかね博士をはじめとする BL23SU スタッフの皆様、高輝度光科学研究センター・室隆桂之博士をはじめとする BL25SU スタッフの皆様、加速器関連スタッフの皆様の御協力に深謝いたします。特に本実験は他ユーザーに迷惑をかけることなくアンジュレータ磁石列の駆動や電子ビーム軌道のキッカー磁石による変調を行う必要があるなど多くの技術的課題がありましたが、本研究の重要性を御理解いただき上記課題等の克服に御尽力いただけたことによって、初めて本研究の成功に至ることが出来ました。

神戸大学発達科学部中川研究室の歴代学生の皆様、特に金子房恵博士(現,住友ゴム),泉雄大博士(現,高輝度光科学研究センター),古結俊行氏,埴岡(児玉)洋子氏らには試料作製から理論計算に渡る幅広い御協力を頂きました。

また本研究は文部科学省原子力試験研究費,科学研究費補助金若手研究,住友財団基礎科学研究助成などからの支援を受けて遂行されました。

最後になりましたが,本研究は全て神戸大学発達科学部・中川和道教授との共同研究,御指導の下で行われました。先生から頂戴した数多くの叱咤激励にこの場をお借りして謝恩の意を表させていただきます。

#### 参考文献

- 1) T. Hirono, H. Kimura, T. Muro, Y. Saitoh, T. Ishikawa, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* **2005**, *144*, 1097.
- 2) M. Suzuki, N. Kawamura, M. Mizumaki, A. Urata, H. Maruyama, S. Goto, T. Ishikawa, *Jpn. J. Appl. Phys. Part 2 - Lett.* **1998**, *37*, L1488.
- 3) T. Yamada, K. Yagi-Watanabe, M. Tanaka, F. Kaneko, T. Kitada, Y. Ohta, K. Nakagawa, *Rev. Sci. Instrum.* **2005**, *76*, 093103.
- 4) M. Tanaka, K. Yagi-Watanabe, T. Yamada, F. Kaneko, K. Nakagawa, *Chirality* **2006**, *18*, 196.
- 5) K. Yagi-Watanabe, M. Tanaka, F. Kaneko, K. Nakagawa, *Rev. Sci. Instrum.* **2007**, *78*, 123106.

- 6) 田中真人, 「放射線化学」 **2011**, *91*, 51.
- 7) H. Onuki, *Nucl. Instrum. Methods. Phys. Res. A* **1986**, *246*, 94.
- 8) M. Tanaka, K. Yagi-Watanabe, F. Kaneko, K. Nakagawa, *J. Synchrotron Radiat.* **2009**, *16*, 455.
- 9) M. Tanaka, K. Yagi-Watanabe, F. Kaneko, K. Nakagawa, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* **2010**, *181*, 177.
- 10) M. Tanaka, K. Yagi-Watanabe, F. Kaneko, K. Nakagawa, *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 11928.
- 11) L. Alagna, T. Prospero, S. Turchini, J. Goulon, A. Rogalev, C. Goulon-Ginet, C. R. Natoli, P. D. Peacock, B. Stewart, *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *80*, 4799.
- 12) O. Plashkevych, V. Carravetta, O. Vahtras, H. Ågren, *Chem. Phys.* **1998**, *232*, 49.
- 13) A. Agui, A. Yoshigoe, T. Nakatani, T. Matsushita, Y. Saitoh, A. Yokoya, H. Tanaka, Y. Miyahara, T. Shimada, M. Takeuchi, T. Bizen, S. Sasaki, M. Takao, H. Aoyagi, T. P. Kudo, K. Satoh, S. Wu, Y. Hiramatsu, H. Ohkuma, *Rev. Sci. Instrum.* **2001**, *72*, 3191.
- 14) M. Tanaka, K. Nakagawa, A. Agui, K. Fujii, A. Yokoya, *Physica Scripta* **2005**, *T115*, 873.
- 15) 中川和道, 田中真人, 安居院あかね, 「放射光」 **2005**, *18*, 363.
- 16) T. Muro, T. Nakamura, T. Matsushita, T. Wakita, K. Fukumoto, H. Kimura, T. Hirono, T. Kinoshita, T. Hara, K. Shirasawa, M. Takeuchi, H. Kitamura, *AIP Conf. Proc.* **2007**, *879*, 571.
- 17) Y. Izumi, A. Imazu, A. Mimoto, M. Tanaka, K. Nakagawa, M. Tanaka, A. Agui, T. Muro, *J. Phys.: Conf. Ser.* **2009**, *190*, 012209.

## 著者略歴

田中 真人：2003年神戸大学大学院自然科学研究科博士後期課程修了，博士（理学）取得，早稲田大学理工学術院客員研究助手を経て，2005年より現職。主に偏光を用いたキラリテイ計測技術，分子構造解析，磁気特性計測技術の開発と応用に従事。