

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13687

研究課題名(和文) 相対論的フェムト秒電子線パルスを用いた新しい電子線結晶学の挑戦

研究課題名(英文) Challenge of electron crystallography using relativistic femtosecond electron pulses

研究代表者

楊 金峰 (Yang, Jinfeng)

大阪大学・産業科学研究所・准教授

研究者番号：90362631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：フォトカソード高周波電子銃を用いてエネルギーが3.1MeV、パルス幅が100fsの高輝度・高強度電子線パルスを発生し、世界最高性能を有する「フェムト秒電子線結晶構造解析装置」を開発した。この装置を用いて電子回折測定により、金単結晶、合成フッ素マイカ結晶等の物質における優れた分解能で広い運動量空間情報を獲得することに成功した。また、単一フェムト秒電子線パルスを用いた電子回折像の観測(シングルショット測定)にも成功し、これにより、有機高分子等の様々な物質における構造相転移、電荷移動メカニズムや重要な生命機能を担うタンパク質結晶構造解析と構造ダイナミクス等の研究に大きく貢献することが期待できる。

研究成果の概要(英文)：We have succeeded to develop a femtosecond time-resolved electron diffractometer using high-brightness 100-fs electron pulses at an energy of 3.1 MeV generated by a radio-frequency acceleration-based photoemission gun. Using the diffractometer, we obtained high-quality diffraction images from single gold crystals and Mica crystals with a single shot. The measurements were successful in facilitating the detection of higher-order diffraction patterns with a scattering vector up to 1.47/Å and an excellent spatial resolution of 0.02/Å. The demonstration indicates that our relativistic ultrafast electron diffractometer is applied to facilitate the study of ultrafast structural dynamics of reversible and irreversible processes in organic/inorganic molecules and protein materials at the femtosecond time-scale.

研究分野：加速器科学、電子顕微鏡、ビーム物理

キーワード：超高速電子回折 フェムト秒電子線パルス 結晶構造解析 高周波電子銃

### 1. 研究開始当初の背景

電子線は、物質との相互作用が大きく、X線に比べて10万倍も強く試料に散乱される。電子線結晶構造解析法は、これまでX線結晶解析法で利用できなかった微小で薄い結晶の構造決定に利用可能であり、重要な生命機能を担う膜タンパク質や生体超分子複合体の構造解析に期待されている。しかし、この長所の裏には、電子線照射による試料の損傷と真空中の試料の乾燥による変性という2つの重大な問題を抱えている。現在の電子線結晶構造解析は電子顕微鏡から発生した連続電子ビームを用いている為、これらを解決して、高分解能の構造解析を可能にするには、極低温電子顕微鏡と急速凍結の技術が必須である。電子線結晶学による構造解析は現在のところ容易な手法とは言えない。

近年、我々は、フェムト秒短パルスレーザーと高周波 (RF) が駆動した相対論的エネルギー領域でのフェムト秒超短パルス電子ビームを発生可能な高性能電子源 (フォトカソード RF 電子銃) を開発し、単一電子線パルスを用いた電子回折の観測 (シングルショット測定) と時間分解電子回折による光誘起構造ダイナミクスの測定に成功し、大きな注目を集めている [1]。本研究では、これまでのフェムト秒電子線パルス発生と時間分解電子回折測定の経験を活用し、電子ビームを高輝度化し、電子の検出効率を向上することにより、相対論的エネルギーのフェムト秒電子線パルスを用いて、結晶が損傷を受ける前に電子回折図形を記録するフェムト秒電子線結晶構造解析法の開発を提案した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の3つである。

- (1) フォトカソード RF 電子銃を用いて、エネルギーが 1~5 MeV、パルス幅が 100 フェムト秒の高輝度電子線パルスの発生技術を確認すること。
- (2) 相対論的フェムト秒電子線パルスを用いて、サンプルが損傷を受ける前に電子回折図形を記録するシングルショット結晶構造測定法を開発すること。
- (3) 時間分解電子回折の測定を通して、フェムト秒時間領域での構造ダイナミクスの測定法という斬新な「フェムト秒電子線結晶構造解析法」の開発を試みることに。

### 3. 研究の方法

- (1) フォトカソード RF 電子銃を高度化し、局低エミッタンスのフェムト秒電子線パルスの発生技術を確認した。まず、電子ビームの初期エミッタンスを低減する為には、初期エミッタンスと励起レーザーのスポット径への依存性を調べて、レーザーのスポット径を最適化した。試料までのビーム輸送中に空間電荷効果によるエミッタンス増大の低減に関しては、コンデンサーレンズ 2 台を利用した超短電子線パルス入

射光学系を設計し、導入した。

次に、コンデンサー絞りをを用いて更なるエミッタンスとエネルギー分散の低減を行った。このために、エミッタンスと絞りサイズへの依存性を調べて、絞りサイズの最適化を行った。フェムト秒電子線パルスの発生については、我々が所有するパルス幅が 100 フェムト秒の Ti:sapphire レーザーを用いた。電子ビームのエネルギーは、測定試料を応じて、加速空洞に入力する RF パワーの調整によって 1~5 MeV に可変となった。電子ビームの輸送や制御は、図 1 に示すような既存の MeV 電子回折装置を用いて行った。

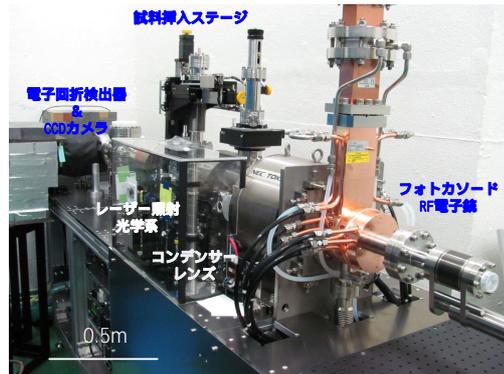


図 1 フェムト秒電子線パルスを用いた電子線結晶構造解析装置

- (2) 相対論的フェムト秒電子線パルスを用いた電子線結晶構造解析法を確立した。電子線パルスを用いて結晶から高分解能の回折点を得る為には、高感度と高分解能を有する検出器が望まれる。そこで、我々が金やシリコン単結晶のシングルショット電子回折測定に適した TI をドーブした CsI の柱状結晶化素子、光ファイバープレートと高感度 EMCCD カメラから構成された検出器を利用した。更に、CsI の柱状結晶化素子のサイズ、シンチレータの厚さ、光ファイバーの大きさ等の最適化を行い、検出器の感度と分解能を向上させて、フェムト秒電子線パルスを用いたシングルショット電子回折図形を記録する検出システムを構築した。
 

また、結晶の電子回折図形から構造を得るためには、結晶をいろいろな角度に傾斜させて電子回折図形を撮影する必要がある。そこで、我々が既存の 3 軸サンプル挿入ステージを 5 軸に改良する。フェムト秒電子線パルスを用いた電子線結晶構造解析実験装置を完成させた。
- (3) フェムト秒電子線結晶構造解析法を用いた応用展開を試みた。まず、金やマイカなど単結晶を用いて、シングルショットによる電子回折図形の観測を行った。得られた電子回折像の明瞭さ、コントラストと電子数、エミッタンスの依存性を調べ、相対論的フェムト秒電子線パルスを用いた電子回折図形を記録する結晶構造測定法を確

立した。次に、比較的に作りやすいニトリ卵白リゾチーム蛋白質結晶を製作し、フェムト秒電子線パルスを用いた電子回折図形の測定を試みた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 高輝度・高強度フェムト秒電子線パルスの発生に成功

電子線回折パターンのシャープさや回折イメージのコントラストは、電子線パルスのエミッタンスに決められる。フェムト秒電子線結晶構造解析法を実現するために、低エミッタンスのフェムト秒電子線パルスの発生が必要不可欠である。RF 電子銃から発生する電子線パルスのエミッタンスは、カソードに照射するレーザーのスポット径と RF 加速位相に依存する。本研究では、まず、レーザーのスポット径と初期エミッタンスの関係、レーザーを集光した時空間電荷効果によるエミッタンスの増大、加速位相とエミッタンスの依存性を実験的に明らかにした。次に、コンデンサー絞りをを用いて収束角が高い電子をブロックし、更なるエミッタンスの低減を試みた。図 2 に、電子線パルスのエミッタンス、輝度とコンデンサー絞りのサイズの依存性を示す。その結果、レーザースポット直径が 0.3 mm、加速位相が 30° の時、直径 0.5 mm のコンデンサー絞りをを用いて、今まで最高輝度の  $2 \times 10^{10} \text{ e}^-/\text{mm}^2\text{mrad}^2$  の相対論的フェムト秒電子線パルスの発生に成功した。この時、電子線パルス幅は 100 fs、パルス当たりの電荷量が 1 pC、規格化エミッタンスは 0.12 mm-mrad であった。電子ビームのエネルギーは 3.1 MeV であった。この電子線パルスの性能としては、現在使用されている非相対論的フェムト秒電子線パルスを用いた超高速電子線回折装置 (UED) を比べて、パルス幅は最短であり、電荷量は 3 桁多いことが分かった。また、次に述べるように、本研究で得られたフェムト秒短パルス電子ビームは高い空間干渉性を有している。

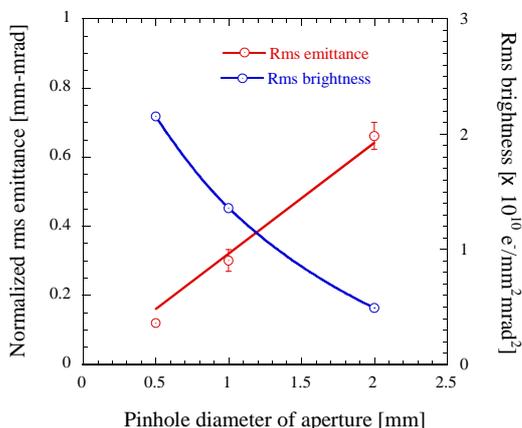


図 2 電子線パルスの横方向規格化エミッタンス、rms 輝度とコンデンサー絞りのサイズの依存性。電子ビームのエネルギーは 3.1 MeV であった。

##### (2) フェムト秒電子線パルスを用いたシングルショット電子線回折測定に成功

物質における多くの構造変化ダイナミクスは不可逆な過程である。また、「研究背景」に述べたような生体分子結晶構造解析では、電子線照射による試料の損傷を回避する測定法が期待されている。これらの不可逆構造ダイナミクスの解明や試料損傷の影響の回避のために、単一フェムト秒電子線パルス (シングルショット) による結晶構造測定手法が必要不可欠である。本研究では、RF 電子銃から発生した高輝度・高強度フェムト秒電子線パルスを用いて、シングルショット測定に適した「フェムト秒電子線結晶構造解析法」の開発に成功した。

実証実験では、成果 (1) に得られた高強度フェムト秒電子線パルスビームを、図 1 に示すような 1 番目のコンデンサーレンズを用いて平行化し、コンデンサー絞りによる低エミッタンス化後、2 番目のコンデンサーレンズを用いて試料に入射した。サンプルの透過電子回折像を、試料の直後に取付けられたディフラクションレンズにより結像し、CsI (TI) シンチレータと EMCCD カメラを用いて記録した。図 3 に、単一電子線パルスと 100 パルス積算で観測した金単結晶の透過電子回折像を示す。電子線パルス幅は 100 fs、パルス当たりの電荷量が 1 pC、電子ビームのエネルギーは 3.1 MeV であった。

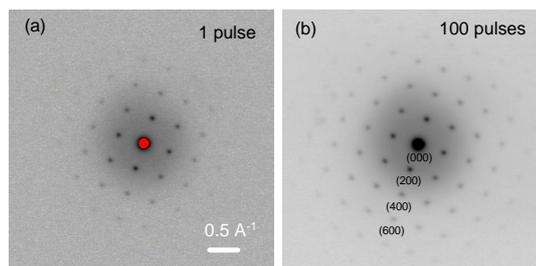


図 3 (a) 単一相対論的フェムト秒電子線パルスと (b) 100 パルス積算で観測した金単結晶の透過電子回折像。電子線パルス幅は 100 fs、電荷量が 1 pC/pulse、電子ビームのエネルギーは 3.1 MeV であった。

第一の成果は、フェムト秒超短電子線パルスを用いたシングルショットで明瞭な電子回折図形の測定に成功したことである。シングルショット電子線回折の測定技術はフェムト秒時間分解能の実現、実時間での原子・分子レベルの構造ダイナミクスの観察に必要な不可欠な技術である。この成果は、今まで測定困難であった不可逆かつ超高速な構造相転移現象や化学反応プロセスの研究を可能にするという極めて大きな意義を有している。第二の成果は、優れた分解能を有していることである。これにより、電子回折測定では、非常にシャープかつ高いコントラストな電子回折像を得ることができる。更に重要なことは、この回折像から得られる最大の

散乱波数 (scattering vector) が  $1.47 \text{ \AA}^{-1}$  以上に及んでいることであり、これによって極めて広範囲の運動量空間における情報が直接検出できるということである。

図4は、図3に示した回折像の(600)方向に沿った強度変化を示したものである。この曲線におけるゼロ次スポットの分布と回折スポットの距離からゼロ次スポットの幅(空間分解能)、ビームの試料への収束角が評価できる。これらの値から求めた本装置におけるゼロ次スポットの幅と収束角は、それぞれ  $0.02 \text{ \AA}^{-1}$  と  $31 \text{ \mu rad}$  である。この非常に狭いゼロ次スポット幅は本装置が優れた分解能を有することを示し、更に得られた収束角は通常の透過電子顕微鏡の値よりも2桁程度小さく、理想的な回折像測定に近いことがわかった。

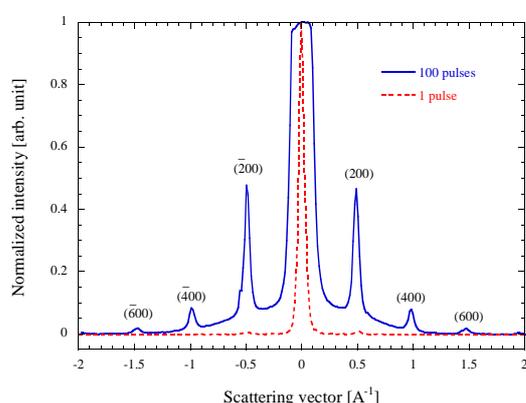


図4 金単結晶の透過電子回折像の(600)方向に沿った強度変化

以上の結果は、我々が製作した回折装置がそのいずれの特性においても世界最高性能を有する装置であることを明確に示している。優れた分解能で広い運動量空間情報を獲得できることは、有機高分子、タンパク質などの様々な物質における結晶構造解析や電子照射による損傷や自己修復メカニズムの研究に大きく貢献することも期待できる。

### (3) フェムト秒電子線パルスによる結晶構造解析の応用展開の試み

タンパク質結晶のような格子定数が高い生体分子結晶の構造測定には、空間干渉性 (Spatial Coherence) が高い電子ビームが必要である。空間干渉性を表すコヒレンスの長さは電子線の波長とエミッタンスまたは収束角から求めることができる。図4の結果から求めた本装置における電子線パルスの空間コヒレンスの長さは  $56 \text{ \AA}$  であった。この値は、今までに発表されている多くの時間分解電子回折装置の値より2倍以上である。通常では、電子線のエネルギーが高くなると空間干渉性が悪くなるが、我々は電子ビームのエミッタンスを極限まで低減する事により、高い空間干渉性を有するフェムト秒電子線パルスの発生に成功した。これにより、重

要な生命機能を担うタンパク質や生体超分子複合体の構造解析を実現する必要な条件を達した。この高い空間干渉性を有するフェムト秒電子線パルスを用いて、複雑の構造を持つ合成フッ素マイカ単結晶とニワトリ卵白リゾチーム蛋白質結晶の電子回折の測定を試みた。

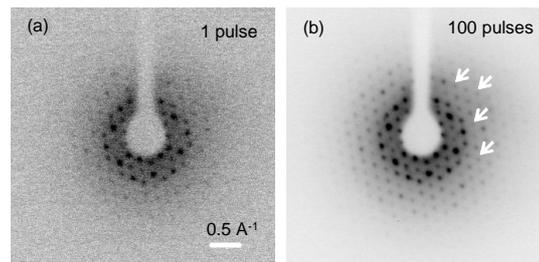


図5 (a)単一相対論的フェムト秒電子線パルスと(b)100パルス積算で観測したマイカ結晶 ( $\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3)\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ ) の透過電子回折像。電子線パルス幅は  $100 \text{ fs}$ 、電荷量が  $1 \text{ pC/pulse}$ 、電子ビームのエネルギーは  $3.1 \text{ MeV}$  であった。

図5は、単一フェムト秒電子線パルスと100パルス積算で観測したマイカ結晶 ( $\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3)\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ ) の透過電子回折像である。電子線パルスのパラメータは、金単結晶の回折像の測定時と同じ値である。回折スポットの強度比を高くするために、ゼロ次スポットを、ビームダンプを用いてブロックした。金結晶薄膜と同様に、マイカ単結晶においても明瞭な回折像を得ることに成功し、シングルショットの観察でも十分に解析可能な回折図形が得られることもわかった。この結果より、本装置は、金のような元素の質量が重い物質だけではなく、軽い元素から構成された金属酸化物や有機分子結晶における構造相転移、電荷移動等の研究への利用が期待される。更に、図5に矢印で示した回折スポットは通常の低加速電圧の電子線回折実験では得られにくい回折パターンであるが、相対論的エネルギーの電子線パルスでは明瞭に得ることができた。これは、本装置の特徴の一つである相対論的エネルギー電子線を使用することで非弾性散乱や多重散乱の影響が極端に低減され、弾性散乱された電子回折像であることを証明した。従って、本装置から得た構造情報を弾性散乱のみのモデルで理解する事ができ、構造ダイナミクス研究の対象を格段に広げることができる。

次に、自らニワトリ卵白リゾチーム蛋白質結晶を製作し、相対論的フェムト秒電子線パルスを用いた電子回折図形の測定を試みた。タンパク質結晶構造を表す電子回折パターンを観察することができたが、製作したリゾチーム蛋白質結晶が厚すぎた ( $50 \text{ \mu m}$ ) ため、多重散乱の影響でX線回折のように明瞭な回折像まで至らなかった。しかし、勿論、タンパク質結晶構造解析への応用展開については、格子定数が高いため電子回折図形の拡大

や分解能の向上などの課題が残されているが、膜タンパク質や2次元蛋白質の結晶を作製すれば、相対論的フェムト秒電子線パルスを用いて損傷の影響を回避できる、重要な生命機能を担うタンパク質や生体超分子複合体の構造解析が実現可能であることを示唆している。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

- (1) J. Yang, Y. Yoshida, Prototype of relativistic femtosecond electron microscopy, Ultramicroscopy, 2018, submitted.
- (2) J. Yang, Y. Yoshida, H. Yasuda, Ultrafast electron microscopy with relativistic femtosecond electron pulses, Microscopy, 2018, accepted.
- (3) J. Yang, K. Tanimura, H. Yasuda, Y. Yoshida, Relativistic ultrafast electron microscopy: single-shot diffraction imaging with femtosecond electron pulses, Appl. Phys. Express, 2018, submitted.
- (4) K. Kan, J. Yang, A. Ogata, T. Kondoh, M. Gohdo, H. Shibata, Y. Yoshida, Generation of terahertz waves using ultrashort electron beams from a photocathode radio-frequency gun linac, Electron. Comm. Jpn. 査読有, 99, No.1, 2016, 22-24.  
DOI: 10.1002/ecj.11767
- (5) 楊金峰, 吉田陽一, 高速パルスラジオリシスと短寿命中間活性種の検出, Radioisotopes, 査読有, 66, 2017, 395-406.  
DOI: 10.3769/radioisotopes.66.395
- (6) 楊金峰, 吉田陽一, 時空を細かく観る 100 fs - 1 nm 分解能 MeV 級電子顕微鏡の開発, 放射線と産業, 査読有, 144, 2018, 29-32.  
DOI なし

〔学会発表〕(計74件)

- (1) J. Yang, Ultrafast relativistic-energy electron microscopy (招待講演), 8<sup>th</sup> International Particle Accelerator Conference 2017 (IPAC'17), May 14-19, 2017, Copenhagen, Denmark.
- (2) J. Yang, U Ultrafast Electron Microscopy using a MeV-energy Femtosecond-pulse Electron Beam (招待講演), Femtosecond Electron Imaging and Spectroscopy Workshop 2017 (FEIS 2017), Jun. 11-15, 2017, Shanghai, China.
- (3) 楊金峰, フェムト秒電子線パルスを用いた超高速電子線回折と電子顕微鏡の研究 (招待講演), 第65回 UV/EB 研究会, 2017年6月9日, 大阪.
- (4) J. Yang, Ultrafast electron microscopy using femtosecond relativistic-energy electron beam (招待講演), 7<sup>th</sup> International Particle Accelerator Conference 2016 (IPAC'16), May 9-13, 2016, Busan, Korea.

- (5) J. Yang, Ultrafast electron microscopy using a relativistic-energy femtosecond electron beam (招待講演), OPIC & PHOTONICS International Congress 2016 & International Conference on High Energy Density Science 2016 (HEDS2016), May 17-20, 2016, Yokohama, Japan.
- (6) J. Yang, Photocathode rf gun based ultrafast electron diffraction and imaging (招待講演), The 8<sup>th</sup> Asian Forum for Accelerator and Detectors (AFAD2017), Jan. 16-18, 2017, Lanzhou, China.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/bsn/yoshilab.htm>

## 6 . 研究組織

(1) 研究代表者

楊 金峰 (YANG Jinfeng)

大阪大学・産業科学研究所・准教授

研究者番号: 90362631