

# オーバーサンプリング法を用いた単粒子 X 線回折

西野吉則<sup>1</sup>、石川哲也<sup>1</sup>、Jianwei Miao<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SPring-8/理化学研究所、<sup>2</sup>SSRL

## 1 はじめに

X 線は、電子線に比べ透過性が高く、物質内部の観察に有利である。一方において、レンズ等の光学素子の製作が難しいという難点もある。ほとんどの X 線マイクロコピーにおいては、従って、光学素子の性能が空間分解能を決定する。これに反し、回折マイクロコピーは、高精度の光学素子や検出器を要しないため、波長程度の分解能が達成可能である。実際、X 線回折による結晶解析は、原子分解能での構造決定において、これまで多くの成果を上げている。

この X 線結晶解析の手法を、長距離相関のない単粒子試料に拡張する試みが、近年 Miao 等により実現化した [1]。参考文献 [1] では、窒化ケイ素膜上に金粒子 (直径 100nm 程) で作られたパターンの X 線回折強度データ (波長 17Å) から、空間分解能 75nm での二次元像再生に成功した。結晶化が難しい生物試料や、ナノ材料の構造解析への応用が考えられ、非常に有望な手法である。回折マイクロコピーにおいては、位相回復がすなわち構造決定となるが、Miao 等は、オーバーサンプリングした回折強度データから、反復法により位相回復を行なった。

このオーバーサンプリング法の着想には、50 年の歴史がある。標本定理の考察から、回折強度データをオーバーサンプルすることの必要性が、1952 年に Sayre により指摘された [2]。オーバーサンプルされた回折強度データからの位相回復は、Gerchberg と Saxton による反復法の提案と [3]、その後の Fienup による改良によるものである [4]。オーバーサンプリング法を、周期性のない試料のマイクロコピーに応用するアイデアは、より近年になって、Sayre, Chapman, Miao によって提案された [5, 6, 7]。

## 2 硬 X 線領域での単粒子 X 線回折

分解能の向上を目指した、硬 X 線領域での単粒子 X 線回折実験が、現在、SPring-8/理化学研究所と SSRL との共同研究で進められている。ここでは、参考文献 [8] に発表された研究について紹介する。実験は、SPring-8 BL29XU の実験ハッチ 1 で行なわれた。試料には、窒化ケイ素膜の表面および深さ 1  $\mu\text{m}$  の埋め込み層に、電子線リソグラフィーで作られた Ni のパターン (大きさは共に  $2.5 \times 2 \times 0.1 \mu\text{m}^3$ ) が用いられた。各層のパターンは同一で、平面内に互いに  $65^\circ$  回転している。図 1 は SEM で観測された試料像を示す。電子の平均自由行程の短かさのため、表面の Ni パターンは鮮明に見えるものの、1  $\mu\text{m}$  深さの埋め込みパターンはぼんやりとしか見えない。これに対し、図 2 に示すオーバーサンプリング法によって得られた再生像は、表面パターンと埋め込みパターンがオーバーラップして見える。この結果は、オーバーサンプリング法が、より厚い試料のマイクロコピーにも有効である事を示している。なお、回折データは波長 2 Å の X 線によって測定され、図 2 の再生像において 8 nm の空間分解能が実現している。さらに、各層の Ni パターン像を分解するために、三次元フーリエ変換を用いた三次元像の再生を行なった。三次元逆空間での回折データ取得のため、試料を入射光に対して  $-75^\circ$  から  $75^\circ$  まで  $5^\circ$  刻みで回転させ、31 個の二次元回折データを測定した。図 3 には、最終的に得られた三次元の再生像を示す。空間分解能 50 nm が実現し、1  $\mu\text{m}$  離れた表面および埋め込み層のパターンがはっきりと観測できる。トモグラフィー法に比べ、少ない角度点数での二次元データから、三次元像を再現出来た事は注目に値する。

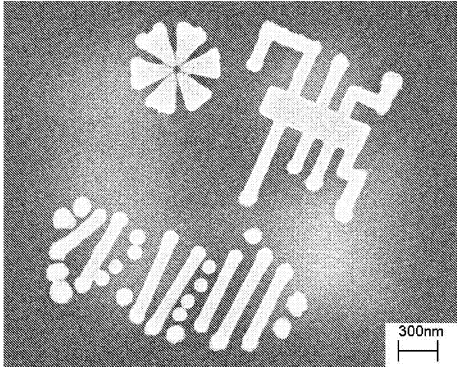


図 1: SEM による Ni パターン試料像 [8]。

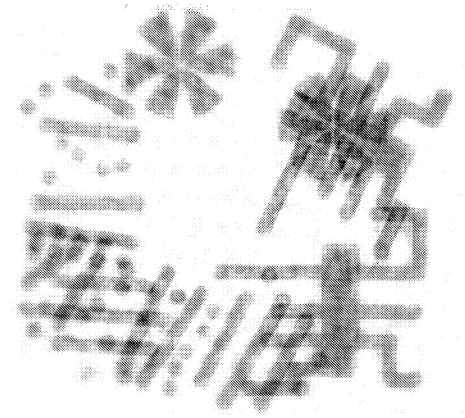


図 2: オーバーサンプリング法によって得られた Ni パターン試料の二次元射影像 [8]。

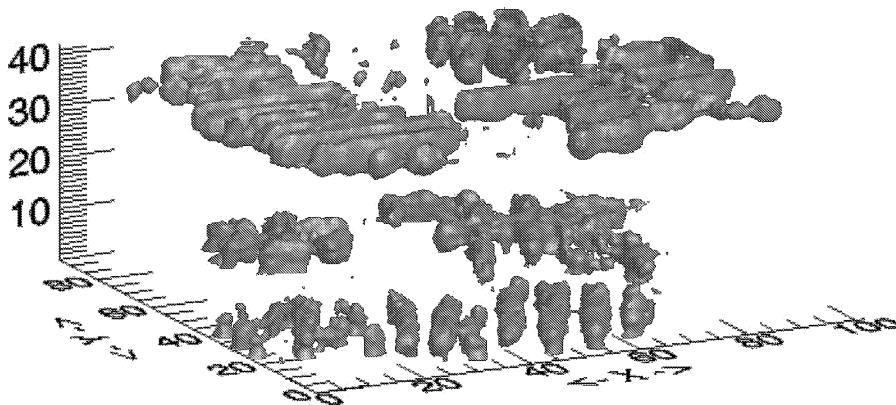


図 3: オーバーサンプリング法によって得られた Ni パターン試料の三次元像 [8]。各軸の単位は 25 nm。



図 4: オーバーサンプリング法によって得られた大腸菌の内部構造 [9]。

さらに、SPring-8 BL29XU では、応用を視野に入れた実験も始まっている。これまでに、大腸菌の内部構造 [9] や、多孔質シリカ内部の電子密度分布 [10] の観測に成功している。図 4 は、オーバーサンプリング法で得られた大腸菌内部の  $\text{KMnO}_4$  で染色された蛋白質の分布構造を示す。波長  $2 \text{ \AA}$  の X 線を用い、 $25 \text{ nm}$  の空間分解能を実現している。これは、生物試料に対するオーバーサンプリング法の最初の適用例である。今後、オーバーサンプリング法は、生物試料やナノ材料の構造解析に威力を発揮するものと期待している。

### 3 将来の展望 (光源に関して)

単結晶および結晶粉末からの X 線回折は、それぞれ Bragg 点および Debye-Scherrer 環に強く局在したピークを与えるが、単粒子 X 線回折は非常に弱く広い分布パターンを与える。従って、実験においては、この微弱な X 線回折パターンを、いかに精密に測定するかが重要点となる。このため、光源には、大強度コヒーレント光が望まれ、次世代の光源である X 線 FEL に期待が寄せられている。二次元回折データを、X 線 FEL の単パルスで測定する実験のシミュレーションも行なわれており、その可能性が示唆されている [11, 12]。

### 参考文献

- [1] J. Miao, P. Charalambous, J. Kirz, and D. Sayre, *Nature (London)* **400**, 342 (1999).
- [2] D. Sayre, *Acta Crystallogr.* **5**, 843 (1952).
- [3] W. Gerchberg and W. O. Saxton, *Optik (Stuttgart)* **35**, 237 (1972).
- [4] J. R. Fienup, *Appl. Opt.* **21**, 2758 (1982).
- [5] D. Sayre and H. N. Chapman, *Acta Crystallogr.* **A51**, 237 (1995).
- [6] D. Sayre, H. N. Chapman, and J. Miao, *Acta Crystallogr.* **A54**, 232 (1998).
- [7] J. Miao, D. Sayre, and H. N. Chapman, *J. Opt. Soc. Am.* **A15**, 1662 (1998).
- [8] J. Miao, T. Ishikawa, B. Johnson, E. H. Anderson, B. Lai, and K. O. Hodgson, *Phys. Rev. Lett.* **89**, 088303 (2002).

- [9] J. Miao, K. O. Hodgson, T. Ishikawa, C. A. Larabell, M. A. LeGros, Y. Nishino, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, accepted for publication.
- [10] J. Miao, J. E. Amonette, K. O. Hodgson, T. Ishikawa, Y. Nishino, in preparation.
- [11] R. Neutze, R. Wouts, D. van der Spoel, E. Weckert, J. Hajdu, Nature (London) **406**, 752 (2000).
- [12] J. Miao, K. O. Hodgson, and D. Sayre, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **98** 6641 (2001).