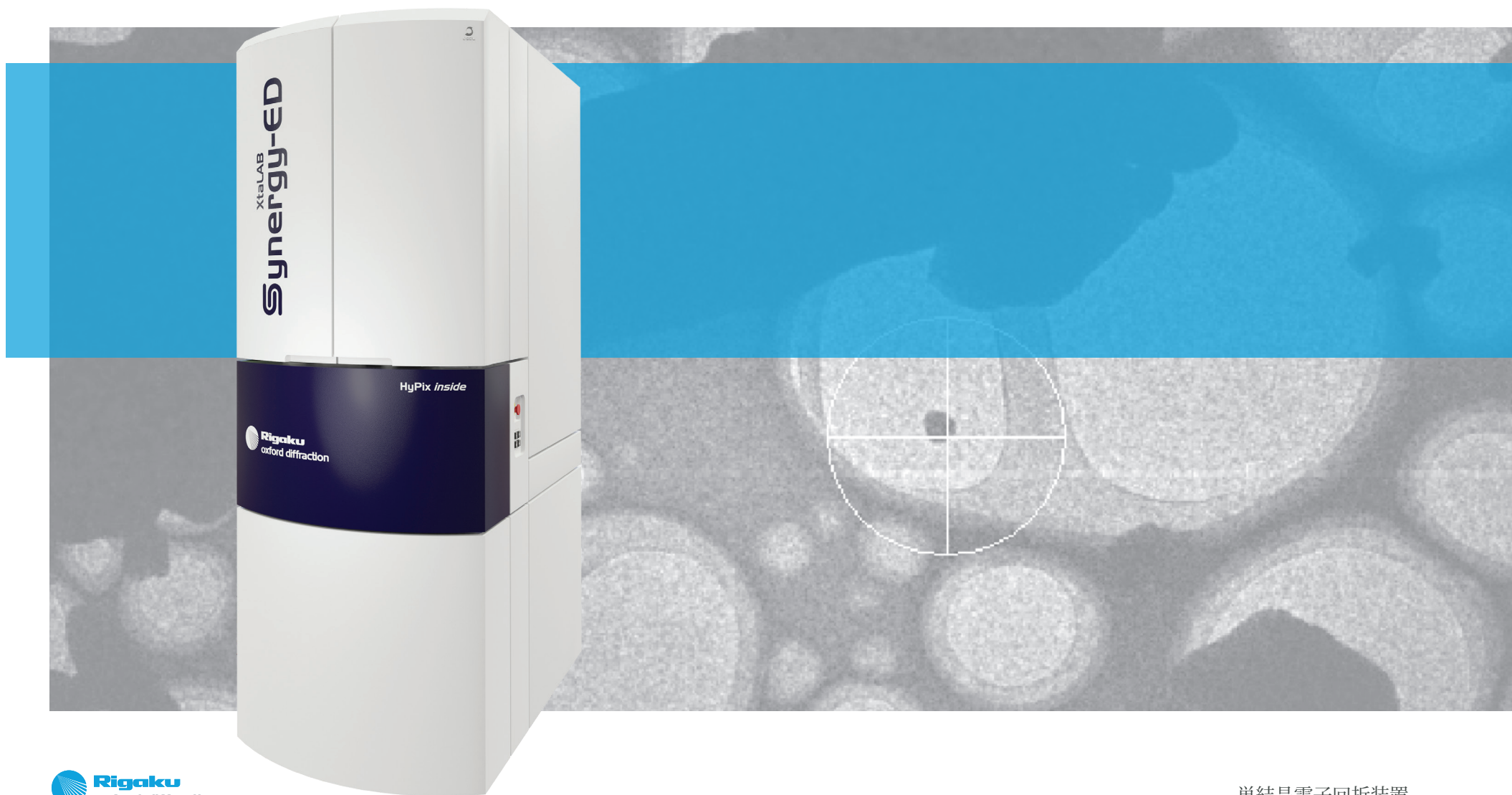


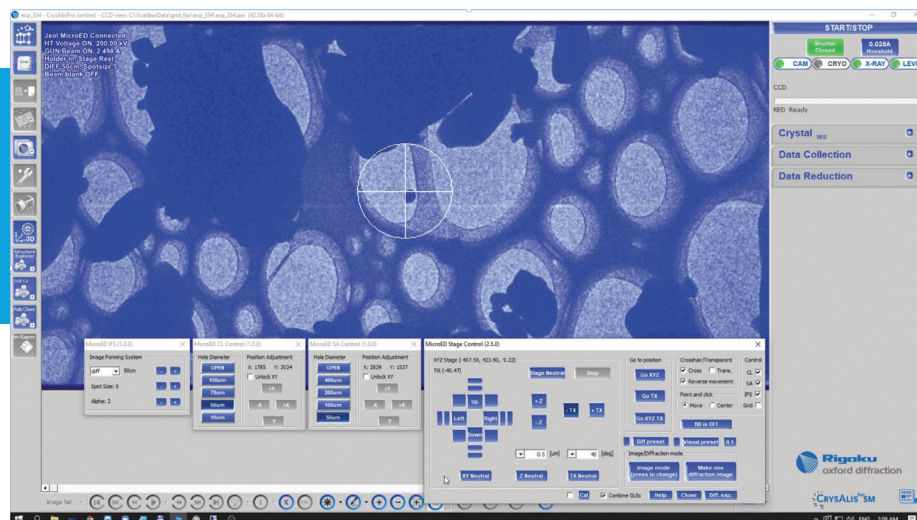
XtaLAB Synergy-ED

化学者のための電子回折装置



単結晶電子回折装置

3DED/MicroED: ナノサイズの結晶から三次元分子構造を決定する画期的な分析法



単結晶電子回折構造解析は、単結晶X線構造解析の代替技術ではありません。X線回折では測定が困難な、微小結晶による構造決定を得意とする分析手法です。微小結晶でも測定が可能なのは、電子線と原子との相互作用が、X線にくらべ

近代的なナノ結晶の3次元電子回折は、Kolb¹ や Gonen² の精力的な研究や報告を契機として注目され始め、今、世界中で3DEDに対する関心が急速に高まっています。

数千～数万倍強いからです。強い相互作用はメリットでもあります。デメリットでもあります。デメリットの一つは測定できる結晶の大きさの上限がある点です。3DED/MicroEDで測定できる結晶の大きさの上限は、X線の測定限界以下の微小結晶です。したがって、測定可能な結晶サイズという点からも両手法に重なりはなく、むしろ相補的な分析手法であるといえます。

ナノサイズの結晶しか得られない化合物は多数存在します。3DED/MicroEDが登場するまでは、NMRなどにより構造を推定していました。NMRに代表される分光法は、部分構造の推定は得意ですが、分子全体としての構造を推定するのは不得意です。特に天然物に見られるような複雑な分子の全体構造の決定は、極めて困難であるといわざるを得ません。NMRによる推定構造が、置換基の位置の違いなど、分子全体としての構造としては正解とは言えない場合も見受けられます。

このような観点から、3DED/MicroEDは、構造科学分野に大きな進歩をもたらす革命的な分析技術として、期待されているのです。

リガクと日本電子

リガクと日本電子は、構造化学を主な分析手法とする化学者が容易に利用できる電子回折装置に対するニーズの高まりを受け、2020年5月、3DED/MicroED構造解析プラットフォームの共同開発契約を締結しました。

共同開発開始依頼、開発会議や実験を何度も積み重ね、開始からちょうど一年の節目となる2021年の5月に、電子回折プラットフォームXtaLAB Synergy-EDの発表に至りました。

XtaLAB Synergy-EDは、リガクと日本電子のコア技術の結晶です。リガクの高速超高感度検出器HyPix-EDと、測定から構造解析までを包括するソフトウェアCrysAlis^{Pro} for ED、日本電子において長年にわたり磨き上げられてきた、電子線発生・制御技術の三つの要素技術を有機的に統合しました。

XtaLAB Synergy-EDを用いれば、これまで必須とされてきた、電子顕微鏡やデータ処理ソフトウェアへの習熟は不要です。単結晶X線構造解析を利用している研究者であれば、導入したその日から、XtaLAB Synergy-EDによる電子回折による単結晶構造解析を開始することが可能です。

3DED/MicroED の課題

3DED/MicroED 実験には、X線による単結晶構造解析とは異なる留意点があります。

電子と物質との相互作用が極めて大きいため、測定できる試料の大きさが限られています。

- 電子線の吸収: 充分小さいと思われる微小結晶でも、電子線が透過しない場合があります。
- 動力学的効果: 電子線が結晶を通過する際に、多重反射が起こります。結晶が厚ければ厚いほど動力学的効果は大きく、構造決定や精密化に大きな影響を及ぼします。
- 試料の損傷: 電子線は高エネルギーの荷電粒子線であるため、試料の損傷が激しい場合があります。電子線による損傷は、可能な限り電子線の照射量を抑え、低温で測定することにより緩和することができます。
- 測定雰囲気: 回折実験中は、試料が高真空に晒されます。たとえ気体であっても電子線を吸収し散乱します。わずかに空気が存在しても、電子線は透過せず回折実験に大きく影響します。

ハードウェア

電子回折用に最適化した
日本電子製200kV電子線源、
本体、光学系



3DED/MicroED用に最適化した
リガク製HyPix-ED検出器



試料ステージはx,y,z
方向の試料位置調整
および一軸回転が可能。
低温測定も可能

3DED/MicroED による回折実験の特徴

3DED/MicroED による回折実験の条件

- 高真空が必要です。試料も高真空に晒されるため、真空中でも安定である必要があります。低温測定を組み合わせる場合には、加えて低温でも安定である必要があります。
- 一軸回転です。真空中かつ高精度で回転する必要があるため、多軸ステージを採用することが困難なためです。
- 複数試料からのデータをマージする必要があります。一軸回転であるため、一つの試料では十分な回折データが取得できない場合があります。
- 電子線による損傷を考慮する必要があります。結晶の観察にも電子線を用いるため、回折実験のみならず、測定する結晶の選別中にも試料は電子線による損傷をうけています。
- 小さい試料であることが必須です(1 μm 以下)。できるだけ小さい試料を選択するようにします。例えば有機化合物の場合、最適な厚さは350 nm程度となります。

SYNERGY-ED の強み

これまで3DED/MicroEDによる構造解析を実行するには、電子顕微鏡付属のソフトウェアで回折イメージを取得したのち、別の結晶学的なソフトウェアを用いてデータを処理するしかありませんでした。

この状況を打破すべく、単結晶X線構造解析分野において、世界的に定評のあるデータ測定・処理用ソフトウェアCrysAlis^{Pro}をベースとした、3DED/MicroED用ソフトウェアCrysAlis^{Pro} for EDを開発し、XtaLAB Synergy-EDに搭載しました。

XtaLAB Synergy-EDでは、試料の選択から回折データの取得、構造解析までの一連の作業を、CrysAlis^{Pro} for EDにより簡単におこなうことが可能です。

単結晶X線構造解析の経験がある研究者であれば、XtaLAB Synergy-EDを導入したその日から、3DED/MicroEDを利用することが可能となります。



XtaLAB Synergy-ED による構造解析

試料の選別

最初に適切な大きさの微結晶を適量、グリッドに搭載します。グリッドに粉末を降りかけ、余分な試料を振り落とす、粉末試料とグリッドを共にエッペンドルフ・チューブに入れて振る、などの方法があります。いずれの場合も、余分な試料を振り落とす必要があります。グリッドを試料ホルダーに装着し、装置に挿入すれば測定準備が完了します。

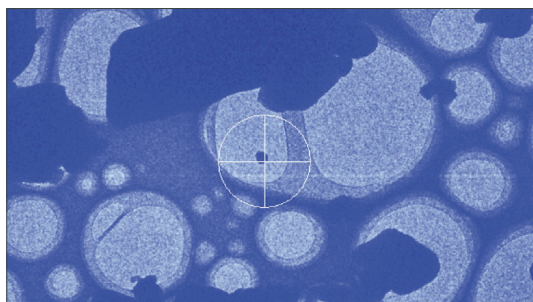
CrysAlis^{Pro} for EDのメイン画面上で、HyPix-ED上に結像した透過像を観察します。試料の観察中も電子線が当たり続けるため、可能な限り電子線照射量を少なくしての観察が重要です。

CrysAlis^{Pro} for EDは、試料観察モードでは最低電子線照射量となるように、光学系を自動的に切り替えます。必要に応じて、照射量を変更することも可能です。

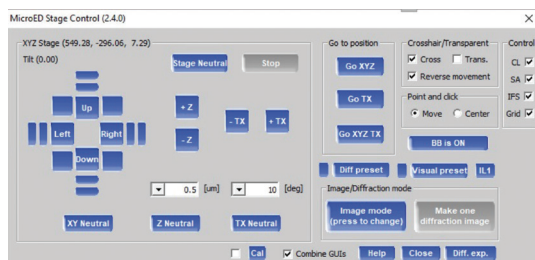
CrysAlis^{Pro} for EDでは、マウス操作によりグリッド上のどの位置にでも試料を移動することができます。適切な試料が見つかったときは、マウスで中心をクリックすると、試料がクロスヘアの中心に移動します。ボタンをクリックしても上下左右、斜めの方向へ移動することが可能です。

グリッドの全体像を示す『minimap』の機能を使うことで、グリッド上の目的位置に迅速に移動することができます。

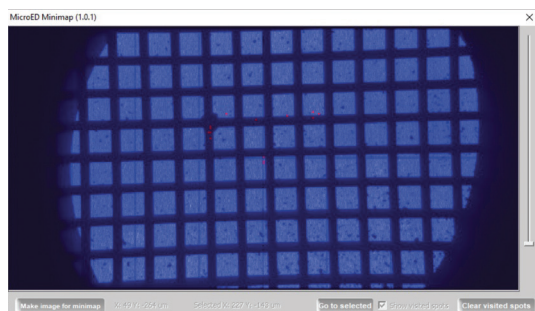
CrysAlis^{Pro} for EDでは、電子線を照射した領域を自動で記録しているため、損傷を受けた可能性のある領域を避けて試料位置を指定することが可能です。



つぎに測定したい結晶を選別します。CrysAlis^{Pro} for EDのメイン画面上に表示されている透過像をクリックすると、クリックした場所が十字線のところに移動します。回折データの測定では、十字線のところにある試料からの回折線が選択され記録されます。したがってこの段階での最終目標は、測定したい結晶を十字線の位置に正確に合わせることです。



上下左右のボタンを利用すると、正確に位置合わせをすることができます。微調整用のボタンのほか、大きな移動用と中間の移動用のボタンが用意されています。



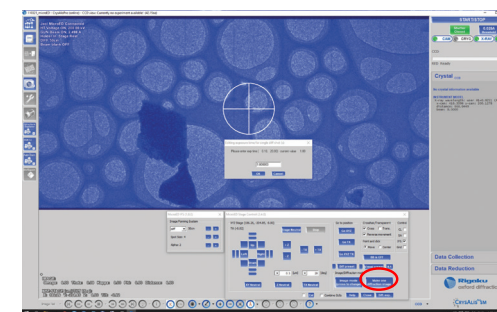
グリッドの全体像を示す『minimap』の機能を使うことで、グリッド上の目的位置に迅速に移動することができます。

回折データの測定

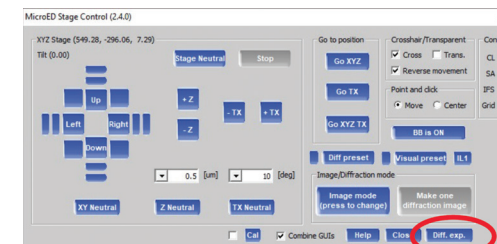
良さそうな試料が見つかったら、次に結晶性を確認します。結晶性の確認では、回折像を一枚測定します。

ボタンをクリックし露光時間を入力します。CrysAlis^{Pro} for EDが自動的にモードを切り替え、回折像を一枚測定します。測定後はビームブランキング機能により自動で電子線の照射を遮断します。試料の損傷を防ぐためです。

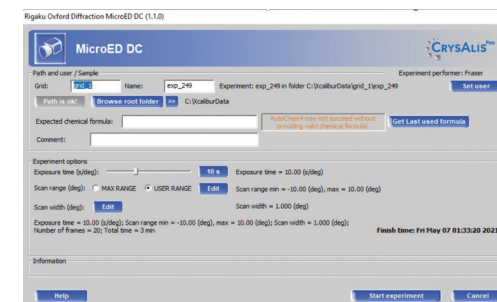
結晶性が良いと判断できれば、あとは回折データを測定するのみとなります。“diff exp” ボタンをクリックすると、自動的に回折モードに切り替わり、測定条件の入力メニューが表示されます。3DED/MicroEDでは回転軸は一軸に限定されています。したがって基本的には露光時間と一枚当たりの振動角、測定全体の角度領域を入力します。必要に応じて、試料名や化学式を入力します。一連の測定をグリッドごとにまとめることも可能です。まとめるためには、グリッド名を変更します。



回折像を一枚測定するには、“Make one diffraction image” ボタンをクリックし、露光時間を入力します。良好な回折像が得られたら、次のステップに移ります。



回折実験を行うには、“diff exp” ボタンをクリックします。結晶観察モードから回折モードに自動的に切り替わります



回折実験は一軸回転に限られるため、複雑な測定条件の設定は不要です。一連の回折実験の結果をグリッド名でまとめることができます。

XtaLAB Synergy-ED による構造解析

回折データの測定 (つづき)

回折データの測定は、X線回折と同様です。すなわち回折イメージの取得と処理が同時に進行します。良いデータが得られている場合には、AutoChemが起動し自動構造解析に成功することもあります。

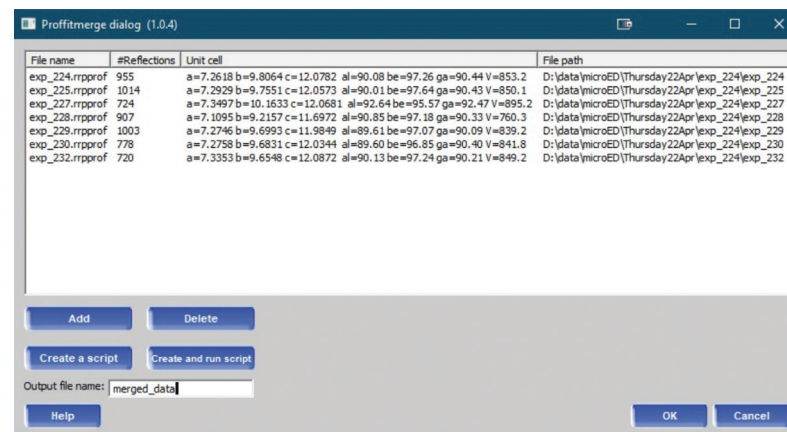
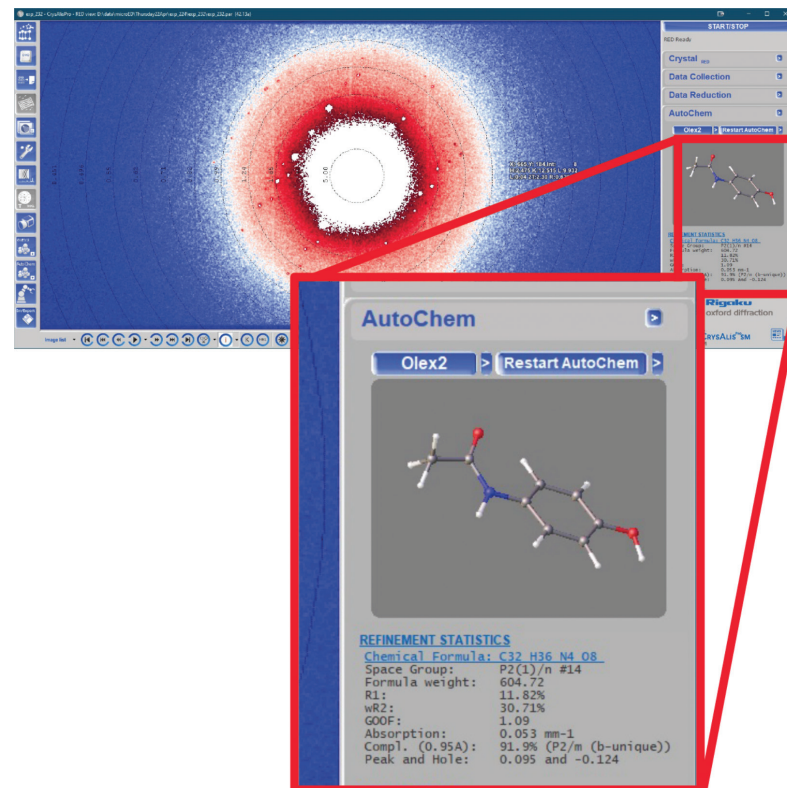
化学者にとって、AutoChemは生産性を大きく改善するツールです。データ測定の進行と同時に、位相決定と精密化を含む自動構造解析が実行され、最終構造に到達することもあります。AutoChemはCrysAlis^{Pro} for EDと一体化しており、X線回折用CrysAlis^{Pro}の強みの一つである“What is this?”の機能に不可欠な要素でもあります。“What is this?”により測定の早い段階で分子構造が得られるため、すでに解析が終了した試料や既知物質のフルデータセットを、再度測定してしまうようなムダを回避することができます。

3DED/MicroEDとX線回折の大きな違いの一つに、複数のデータを結合する必要性が挙げられます。データ測定の際の結晶の回転が一軸回転である上に、物理的に測角範囲が限定されてしまうためです。このような場合でも、CrysAlis^{Pro} for EDは柔軟に対応することができます。複数データの結合用のGUIが用意されており、多数のデータを容易に一つのデータにまとめることができます。結合したデータにより最後にもう一度解析処理を行います。これにより複数データを結合した最終的なhklファイルが作成されます。

X線回折と同様、CrysAlis^{Pro} EDでは、データ測定とデータ処理が同時進行します。

良いデータが取得されているときには、AutoChemも起動します。データの完全性にも依存しますが、最終構造に到達する場合もあります。

データの完全性を上げるためには、複数のデータを結合する必要があります。データの結合用のGUIも用意されており、容易にデータを結合することが可能です。

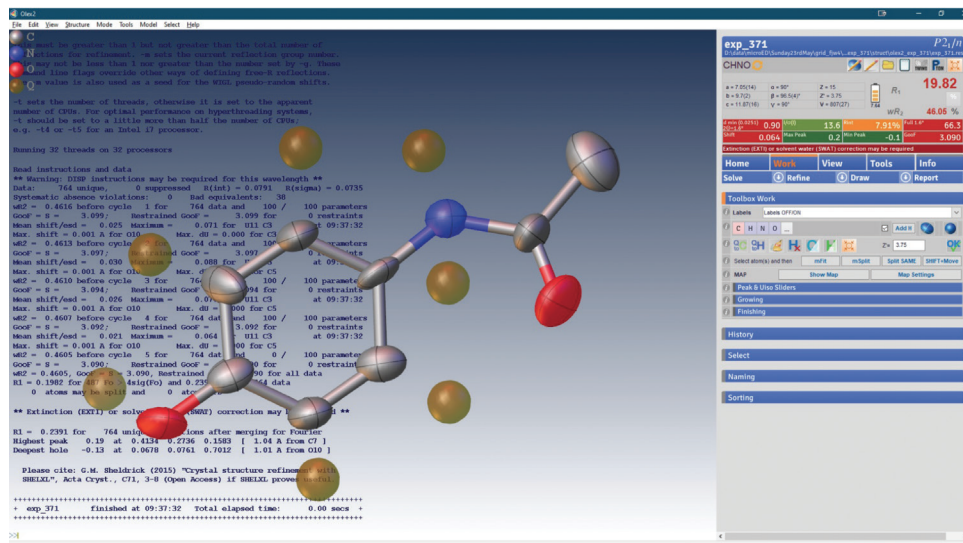


XtaLAB Synergy-ED による構造解析

測定例

ここに挙げる構造は、XtaLAB Synergy-EDを用いて、一粒のアセトアミノフェン（またはパラセタモール、 $C_8H_9NO_2$ ）結晶について電子回折実験を行った結果です。

- 一軸回転にて-60度から+50度の範囲を測定
- Completeness = ~62%
- $R_{int} = 7.9\%$
- $R1 = 15.07\%$ （電子線用原子散乱因子を採用）
- 異方性温度因子は良好
- OMIT命令は数個
- F_o , F_c プロットも良好



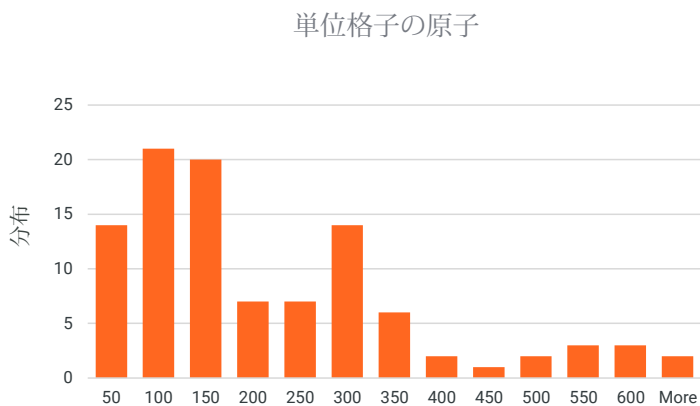
XtaLAB Synergy-ED

これまでに決定した100の構造

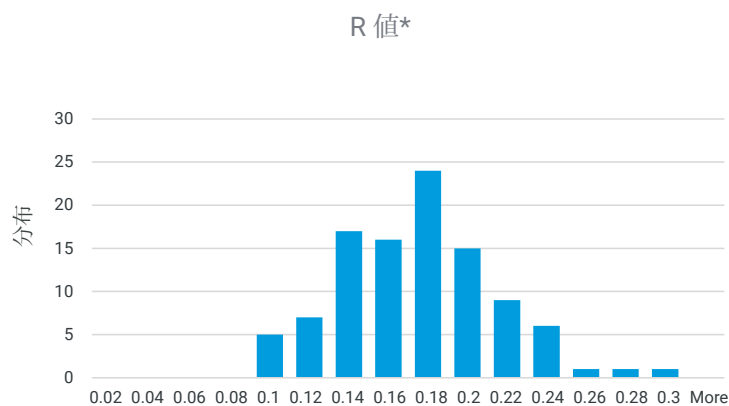
発売開始以来数カ月, XtaLAB Synergy-ED は次々と構造を決定しています. すでに100以上の構造を, ナノ結晶から電子回折によって決定しました.

MOFや有機分子, 単位格子あたり1600個もの原子を含む構造まで, さまざまな試料を解析しています.

* 注: 運動学的理論に基づく精密化のみ



a) 単位格子中の原子数

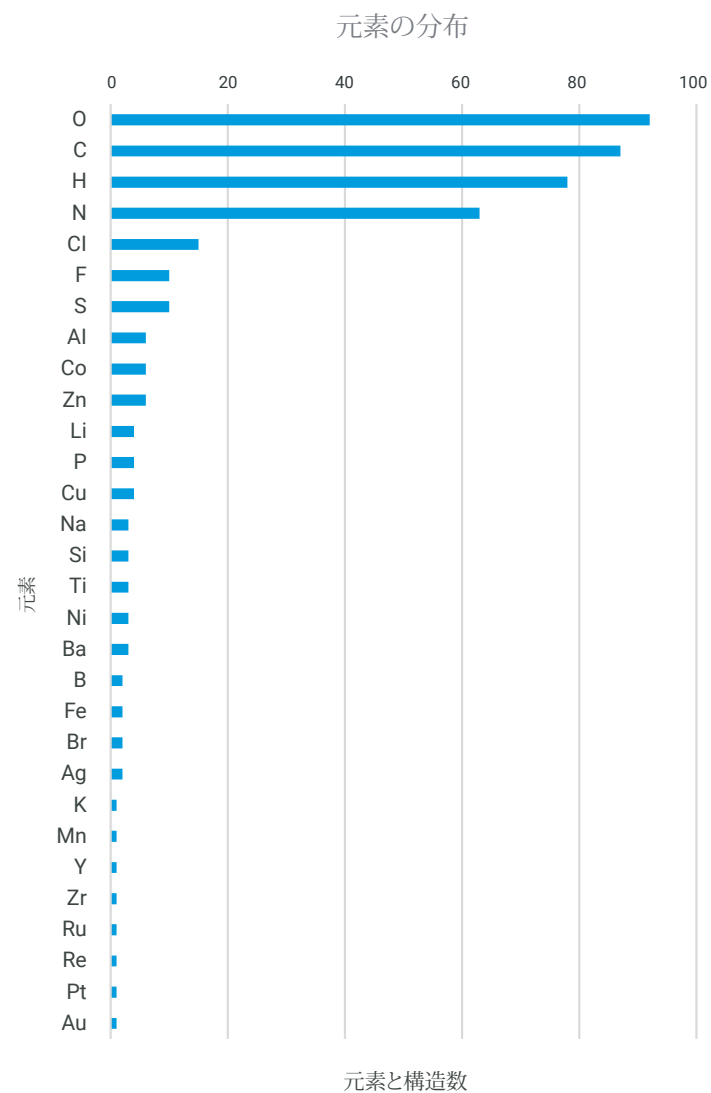
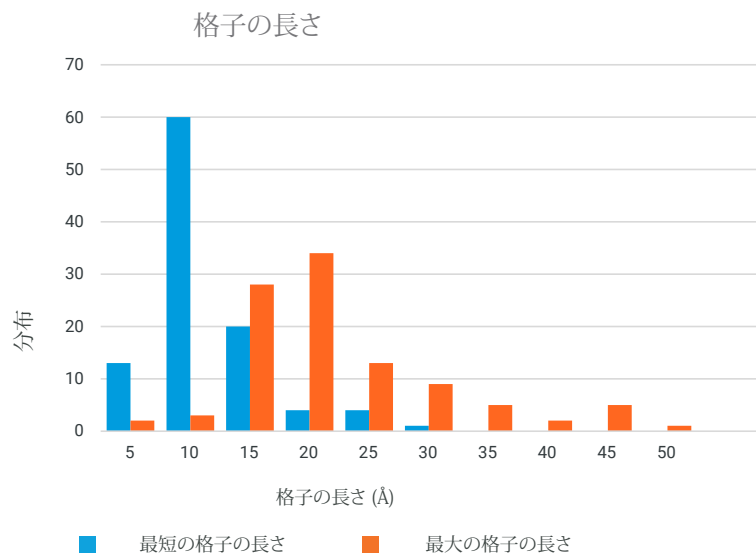
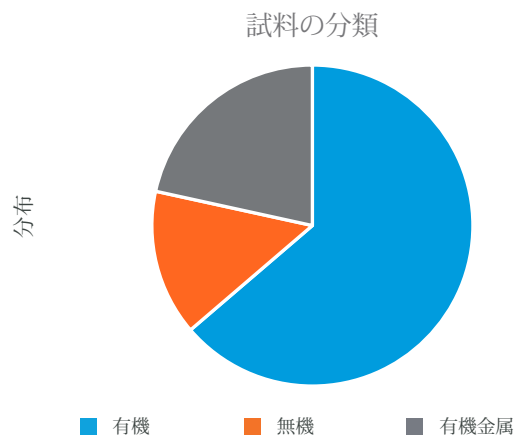


b) R 値 (%)

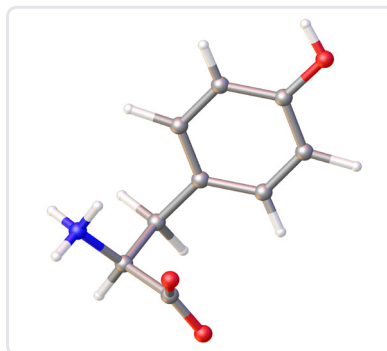


図 1 : これまでに解析された構造の a) 単位格子あたりに含まれる原子数, b) 運動学的理論に基づく精密化により得られたR値.

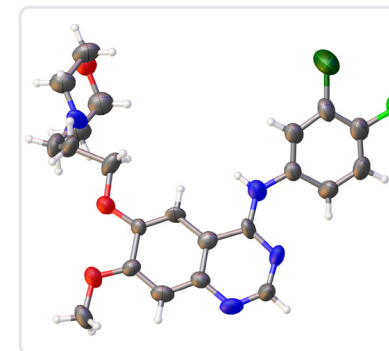
XtaLAB Synergy-ED は短い格子や長い格子, さまざまな組成を持つ試料の極微小結晶に対応しています。



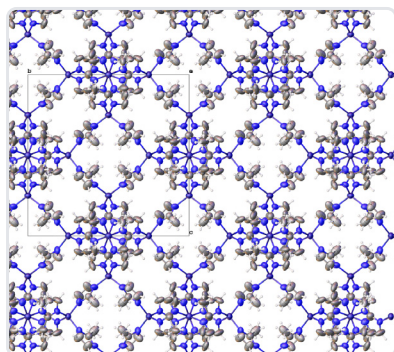
解析データギャラリー



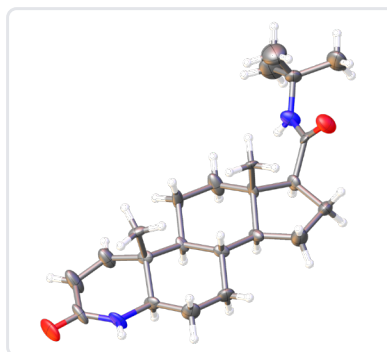
R1: 8.83%
L-チロシン
(アミノ酸)



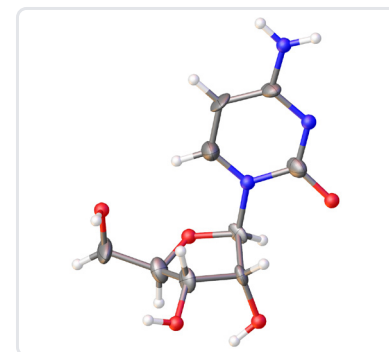
R1: 15.45%
ゲフィチニブ
(抗肺がん薬)



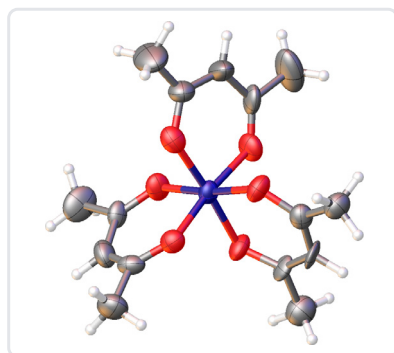
R1: 18.51
ZIF-8
(MOF)



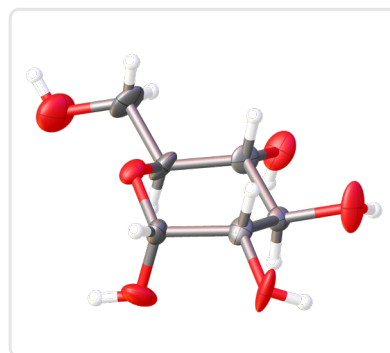
R1: 13.51%
フィナステライド
(育毛剤)



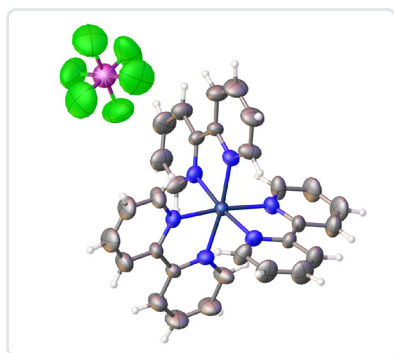
R1: 9.88%
シチジン
(リガクのX
線回折用
標準試料)



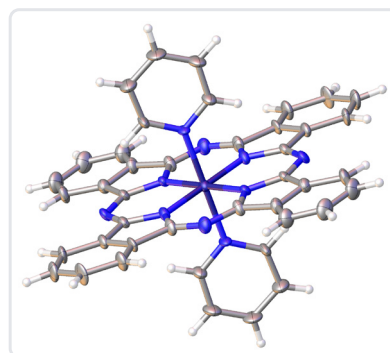
R1: 17.42%
Co-アセチルアセトン
(有機金属錯体)



R1: 11.94%
D-グルコース
(炭水化物)



R1: 14.39%
ルテニウム錯体
(有機金属錯体)



R1: 16.59%
フタロシアニン
(染料)



