

2-5 単結晶 X 線構造解析

概要

分子の構造決定には様々な測定法が用いられていますが、単結晶による X 線結晶構造解析は電子密度分布から分子の構造を把握することができる測定法です。その分解能が高いため、Å 単位での結合長の比較、分子間での相互作用など多くの構造学的因子を議論することが可能になります。また、キラルな分子の絶対配置を決める上でも重要な測定法です（本学装置の場合は重原子を含んでいる必要があります）。

したがって、NMR や IR などの分光学的測定に加えて結晶構造があれば、新規物質を合成した時に十分な説得力を持ちます。そのため現在では、有機化合物、無機化合物、金属錯体などの構造を決定するために幅広い研究者によって利用されています。

1. はじめに

X 線は私たちが色として認識できる可視光と同じ電磁波であり、その波長は約 1 Å (0.1 nm) と可視光の最小値（約 400 nm）と比べて、とても短いです。その長さが原子間距離とほぼ同じであり、さらに X 線が結晶に入射するとその一部が散乱し、回折格子で見られるような干渉を引き起こすので、Å 単位での構造情報を得ることができます。現在では測定から解析に至るまで、かなりの操作が自動化され、測定の経験が少ない方でも手軽に測定できるようになりました。ここではその概略を述べたいと思います。

2. X 線結晶構造解析の方法

2.1 本理学部で所有する最新の装置

本学が所有する装置は、Bruker AXS 社製の SMART APEX II Ultra (図1) で、X線源は Mo K α ($\lambda = 0.71073$ Å) です。Rotating Anodeにより高輝度な X 線が得られ、さらに Helios Mirror により入射 X 線を収束させることで、従来では測定が困難であった 0.10 mm 以下の微小結晶の測定が可能になりました。

搭載されている CCD 検出器は、61 mm \times 61 mm と大きな面積を持つ次世代 4K CCD チップにより、一度により多くの反射を収集することができ、その感度も 170 e⁻/X-ray photon (Mo K α) であるため微弱なピークも観測することができます。



図 1. 本理学部が所有する X 線結晶構造解析装置

測定温度は液化窒素吹き付け装置により、 $-183\text{ }^{\circ}\text{C}$ から $+150\text{ }^{\circ}\text{C}$ までの任意の温度で測定が行うことができ、構造転移相のある結晶でもその前後で構造解析が可能です。

以前まで用いられていた四軸回折系では、結晶を ω , χ , ϕ 軸で回転させて方位を決め、一つずつ反射強度を θ 軸上の計数管により測定していました。そのため測定には数日を要することもありましたが、イメージングプレートや CCD 検出器では 2 次元での反射強度データの収集ができ、また感度が非常に高いため、測定時間が著しく短縮しました。特に CCD 検出器はイメージングプレートと比べて面積は小さいものの、バックグラウンドノイズが小さくなったために、反射強度が低い小さな結晶も露光時間を長くすることで測定することができます。

2.2 測定・解析の手順の概略

結晶が得られたら、顕微鏡を用いてガラスファイバー上に単結晶を1つだけマウントします(図2左)。十分な反射強度が得られているか予備測定を行い確認した後(図2右)、データの収集が自動で行われます。CCD検出器の露光時間にもよりますが、2~3時間程度で測定は終了します。

解析は、適度な強度の反射を用いて格子定数を決定した後、全反射強度を積算します。そのデータの吸収補正を行い、Laue群・空間群を決定し、直接法により初期位相を決定します。その後は、原子を割り振り、Fourier合成と最小二乗法を繰り返しながら構造を精密化します。

最小二乗法による計算が収束すれば、レポートを作成し終了です。所要時間は約1時間です。

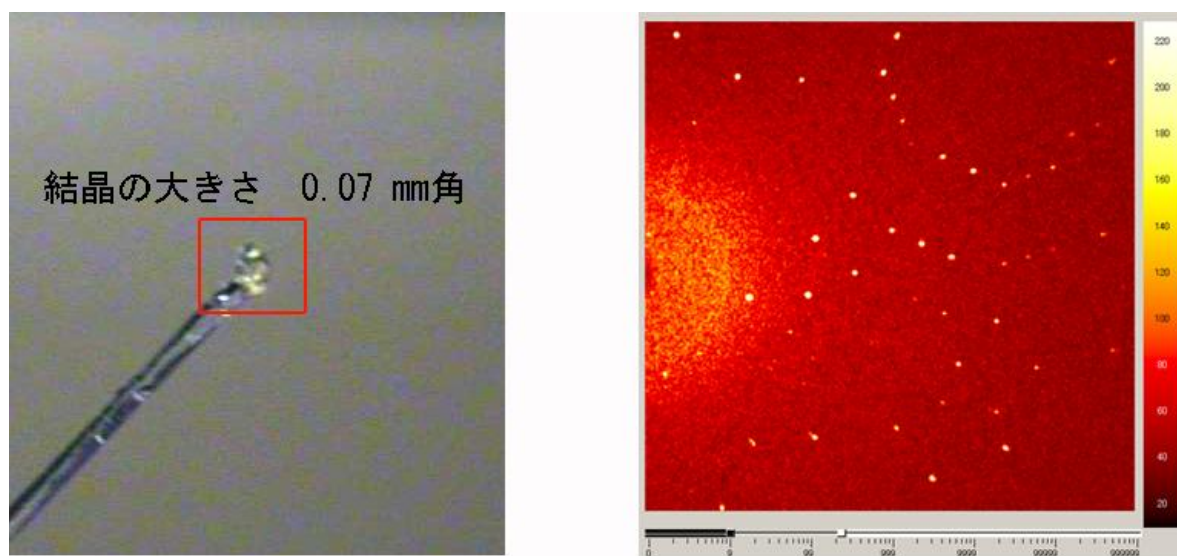


図 2. (左) 測定している結晶, (右) 左図の結晶の反射の一部 (白い点が反射)。

3. X線結晶構造解析便利メモ

3.1 測定に適した結晶の見分け方

測定に適した結晶は、大きさが 0.1 mm 角の結晶で、場合によってはより小さな結晶でも測定できます（例えば $0.15 \times 0.05 \times 0.05 \text{ mm}^3$ ）。単結晶と粗結晶の見分け方としては、光学顕微鏡があれば、結晶の形状に角があり透明であれば単結晶であると考えられます。顕微鏡がない、あるいは色が濃くて透明かどうか分かりづらい場合は、小型の懐中電灯などで母液中の結晶を照らした時に、光が散乱すれば単結晶である可能性が高いです。

3.2 結晶の作成方法

結晶の作成には様々な方法がありますが、① 温度調整による結晶化、② 溶媒の自然蒸発、③ 溶解度の低い溶媒の添加、の 3 つが基本となります。これらはそれぞれで行ってもいいのですが、組み合わせて行うとより良い結果が得られることもあります。例えば、化合物の溶液にその化合物が溶けない溶媒を濁らない程度加え、冷凍庫に静置する、などです。また手法③の溶解度の低い溶媒の加え方は、普通に混合する方法の他に、上層に積む方法（図 3 左）や、蒸気拡散させる方法（図 3 右）があり、ゆっくりと溶解度を下げる効果があります。



図 3. 手法③の溶媒の混合方法.

参考文献

- [1] 桜井敏雄著、「X 線結晶解析の手引き」、裳華房（1983）
- [2] J. ドレント著、「タンパク質の X 線結晶解析法」、竹中章郎、勝部幸輝、笹田義夫、若槻荘市訳、シュプリンガー・ジャパン（2008）
- [3] 日本化学会生体機能関連化学部会編、「生体機能関連化学実験法」、化学同人（2003）