

中性子小角散乱研究会 平成 14 年度報告書

委員長 新村 信雄

1. 背景

研究代表者らによって数年前に開発された中性子イメージングプレートは中性子構造生物学分野の研究を飛躍的に発展させた。その延長上に可能となったのが中性子を用いてのナノサイズ粒子の可視化である。これは中性子小角散乱法により行われるが、従来は中性子検出器の分解能が数 mm であったため冷中性子源を使用することを余儀なくされていた。中性子イメージングプレートの位置分解能が従来の中性子検出器に較べて 10 倍以上向上したことで、熱中性子小角散乱が可能となり、装置建設の幅が広がった。これまでの中性子回折研究がオングストロームの世界を見て来たのに対し、中性子小角散乱はナノから数 10 ナノサイズの世界を提示することになるがその範囲は生体複合体を始め、高分子、磁性体、その他の機能性材料と非常に広い。

2. 研究会のねらい

中性子小角散乱は決して新しい実験手法ではないし、競合・相補関係にある分野（ x 線小角散乱、 x 線・中性子結晶構造解析）も明確である。問題は中性子小角散乱の特徴をどう活かすかである。中性子小角散乱で得られる結果が逆空間（位相空間）で表現されることが多いが、それが非専門家からみて判りにくくなっている嫌いもある。これらを念頭に置きながら、中性子小角散乱を用いた新しいナノセンシングを開拓する。

3. 研究会の進捗状況

今年度は中性子小角散乱研究会の 4 年目になる。中性子イメージングプレートを用いた中性子構造生物学の基礎はほぼ確立した。今後はその産業界への応用や将来展望を行い新しい中性子構造生物学を模索した。また、それに関連し、タンパク質結晶成長メカニズム解明、タンパク質のダイナミックス研究への展望を行った。

4. 研究会の成果

我々はすでに中性子イメージングプレート及び新型中性子モノクロメータの開発・実用化に成功し、これらを装備した中性子回折装置(BIX-3)を建設した。これは世界最高性能を誇る装置で、これにより 1.5Å 分解能タンパク質構造解析が可能になり、水素・水和構造を含めた構造生物学の開拓に充分寄与できることが判明した。BIX-3 を用い、ルブレドキシン（野生型、変異型）、ミオグロビン、を 1.5Å 分解能で全水素、全水和水決定を行うことに成功した。これらの水素・水和構造を含めたタンパク質構造を総合的に評価し、 α -ヘリックス安定化に寄与する新しい 2 分岐水素結合、タンパク質内水素/重水素交換反応の定量化、変化に富んだダイナミックな水和構造等新しい発見が次々になされてきている。

今後は中性子構造生物学を創薬等の産業応用に資すること、また、中性子構造生物学の更なる発展のために現在建設中の大強度陽子加速器中性子源での中性子構造生物学を展望するための研究会を開催した。

薬物の作用はターゲットである蛋白質との分子認識、分子結合である。タンパク質等生体物質の周囲は水分子で取り巻かれ、そのうちのいくつかは水和構造として生体物質と何らかの相互作用で結合している。分子認識は水和という衣を通して分子を認識している。分子認識して薬物が生体物質に近づく。次ぎに分子結合であるが、その際、いくつかの水和水の衣を剥がし、残りの水分子や生体分子の水素原子を介して薬物は生体物質に分子結合する。ラショナルな創薬では、薬物と蛋白質の相互作用の結合エネルギーを算出するためには自由エネルギー計算が行われるが、蛋白質の水和構造の情報なしでは十分な計算精度が得られない。従って X 線回折で立体構造が決定されることは、創薬に際して重要であることには違いないが、それと同じくらい、場合によってはそれ以上に水和構造を決定することが重要である。そして、蛋白質の水和構造を水素原子の位置までも含めて、高精度に解析できる唯一の方法は中性子構造生物学である。

中性子構造生物学の今後の発展のための開発すべき技術はタンパク質の大型結晶育成技術開発である。中性子回折を用いたタンパク質の構造解析には、現段階では少なくとも 1 ミリ角以上の大きな結晶が必要である。すでに我々は従来の方式で相図を決定し、これに基づいて結晶育成を試み、世界最大の DNA 結晶やインスリン結晶を得ることに成功している。これは、タンパク質の相図は大型結晶育成探索に重要な知見を与えていることを意味する。そこで我々は、従来の欠点を改良し、透析法を応用した新しい手法による結晶成長相図作成法を提案した。それは透析膜を使う方法で、タンパク質溶液を透析膜で隔離された部分に入れ、結晶化剤溶液(Cc)の入った部分中にセットしておく、透析膜の原理からタンパク質溶液中の結晶化剤濃度は外液濃度を変化させると結晶化剤濃度はそれにしたがって変化する。但し、内液部のタンパク質濃度(Cp)は不変である。つまり、この操作は(Cp, Cc)空間を Cp 一定で Cc を任意に変化させることである。次に、Cp 部の容積を変化させるとタンパク質濃度が変化する。但し、内液部の結晶化剤濃度は外液に追従するので不変である。つまり、この操作は(Cp, Cc)空間を Cc 一定で Cp を任意に変化させることである。この二つの操作を組み合わせれば、(Cp, Cc)空間の任意の位置にタンパク質溶液を移行できる。つまりタンパク質は最初にセットした量以外に使うことなく、任意の(Cp, Cc)全空間をスキャンできる画期的なものである。

今後の中性子構造生物学のもう一つの課題はタンパク質のダイナミクスを実験的に観測することである。そのためには中性子非弾性散乱が有効である。大強度陽子加速器中性子源はそのためにも使える施設である。このための装置として、DYANA という装置の検討が開始されている。

以下に研究会のプログラムを示す。

第 1 回研究会

日時： 2002 年 10 月 10 日(木) 15:00 - 18:30

場所： 財団法人 新世代研究所会議室

テーマ： 中性子構造生物学

タンパク質の立体構造解析と創薬～中性子構造生物学への期待

黒木良太 キリンビール(株)医薬探索研究所 主任研究員
中性子構造生物学研究構想。大強度陽子加速器中性子源利用にむけて

新村信雄 日本原子力研究所

第2回研究会

日時： 2003年3月12日(水) 14:00 - 17:00

場所： 財団法人 新世代研究所会議室

テーマ： 「タンパク質の結晶成長とダイナミクス」

Characterization of protein crystal and new method of protein
Crystallization

Nobuo Niimura (JAERI)

Protein crystallization mechanism:

Prof. Arunan Nadarajah, Professor and Graduate Studies Director,
Department of Chemical & Environmental Engineering, 3048 Nitschke Hall, University
of Toledo

Neutron inelastic scattering spectrometer for protein Dynamics: DYANA

Dr. Kaoru Shibata (JAERI)

Protein Dynamics

Prof. Douglas Tobias, Department of Chemistry, University of California

5. 4年間のまとめ

中性子小角散乱は充分確立された分野であり、そこに新しい技術である中性子イメージングプレートを導入することで、中性子小角散乱の新しい展開があるのではないだろうかというねらいで研究会を立ち上げた。研究会では、

- (1) 中性子小角散乱の課題、得られた結果を実空間で議論する。
- (2) 最近著しく発展してきた反射率計との関連、反射率計は表面、界面の観測であるのに対し、小角散乱はバルクとしての構造の観測である。
- (3) 新しい中性子小角散乱装置の提言、Double Bent Crystal を用いた中性子小角散乱装置の提言。
- (4) 中性子構造生物学の現状と将来、単結晶構造解析を主体とした中性子構造生物学は確立したので、今後はこれの産業応用が必要。そのための課題は大きな単結晶育成である。

中性子小角散乱研究会はこれをもって終了するが、平成15年度からは、さらにこれを発展させた形で、陣容も新しく黒木良太氏を委員長とする中性子構造生物学の産業応用を目指した研究会が発足する。真理を探究する学問のもう一つの重要な流れは科学の社会への貢献である。時宜に適った新しい研究会の発展を期待する。