

「何ができる?どこがすごい?」～各装置の紹介～

生物用単結晶構造解析装置 iBIX

田中 伊知朗*

1. iBIX 装置で何ができる?

本装置はタンパク質などの構造を精密に計測するために、単結晶試料からのパルス中性子の回折像を測定記録できる装置である。

単結晶中性子回折のうち特に生体高分子試料については、強度不足が一番の問題点で未だ十分に普及するに至っていないが、今回、茨城県が J-PARC に建設した茨城県生命物質構造解析装置 iBIX (茨城大が維持管理) では、1 MW 時に、既存の装置 (JRR-3) の 100 倍以上の測定効率を実現する予定である。この結果、測定時間の短縮や試料の小型化、さらには大型の単結晶試料に適用することで、これまで不可能であった系統的な測定や適用可能な試料を増やすことができる。

平成 21 年 (2009 年) 度中には窒素やヘリウムの低温吹付装置を設置予定で、試料位置の温度を 30–100 K にして測定が可能になる。また、ビームスリットは 0.7–5.1 mm ϕ の範囲

で用意されており、完浴にするならばこのサイズ以内の試料結晶を用意する必要がある。標準は 1 mm³ の試料体積であるが、1 MW 時には 0.1 mm³ の試料体積でも測定が可能となる。反射分離の観点から、無機・有機化合物では単位格子長が 75 Å 程度なら d_{\min} が 0.7 Å (単位格子が小さいものでは 0.5 Å の iBIX での実績有) の分解能が必要である。同様に、生体高分子では単位格子長が 150 Å 以下なら必要とされる分解能 d_{\min} は 2.1 Å, 140 Å 以下なら d_{\min} 1.2 Å という相関に注意する必要がある。

2. iBIX 装置はどこがすごい?

中性子による生体高分子の単結晶構造解析では X 線や NMR では見るのが困難な水素、そしてプロトンの有無が判別できる。これらのことから、活性部位等における水素化、プロトン化の pH 依存性 (図 1) や、水和水の水素の向きまで含めた位置決定により、水の運動性や水素結合方向までが正確に議論可能 (図 2) となる。

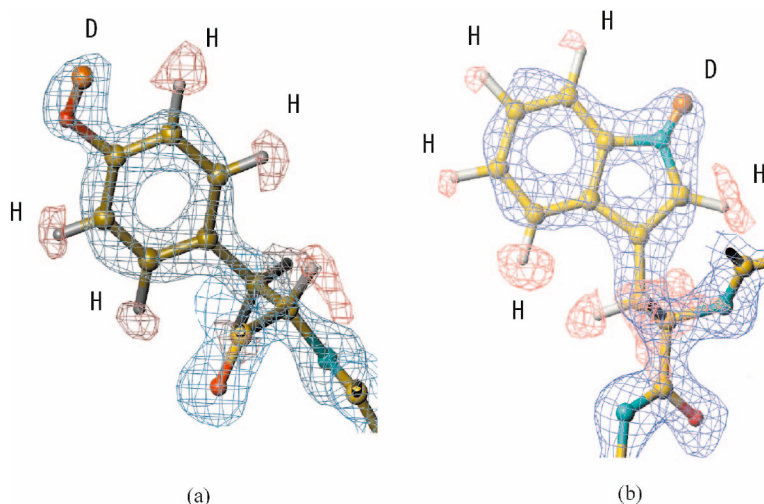


図 1 ルブレドキシタンパク質の (a) チロシン残基と (b) トリプトファン残基。重水素 (D) と水素 (H) が区別して確認できる。

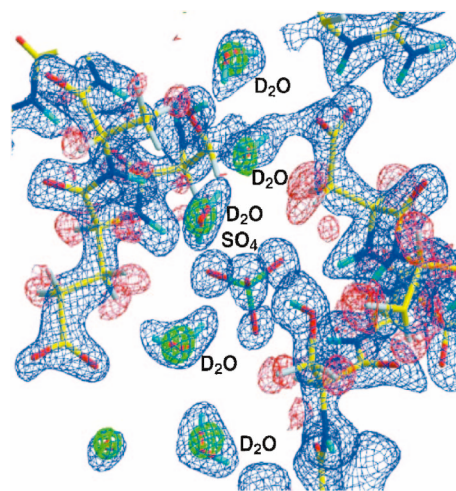


図 2 ミオグロビンタンパク質の水和水の様子。青色および赤色が中性子による水 (酸素と水素あるいはその変形体; 分子運動による違い), 緑色が X 線による水 (酸素のみ)。

* 茨城大学准教授; 工学部生体分子機能工学科 (〒316-8511 日立市中成沢町 4-12-1)

Single Crystal Diffractometer for Biology (iBIX); Ichiro Tanaka (Department of Biomolecular Functional Engineering, College of Engineering, Ibaraki University, Hitachi)

Keywords: single crystal neutron diffractometer, high resolution crystallography, hydrogen, proton, water, protein

2009 年 5 月 9 日受理

表1 iBIXで何ができる？ どこがすごい？

LANSCE PCS		J-PARC iBIX
測定対象 測定領域	弾性散乱 1.0 Å < d < 約100 Å (最大単位格子長180 Å)	弾性散乱 0.35 Å < d < 50 Å (最大単位格子長150 Å)
中性子波長(またはエネルギー)およびフラックス	0.6 Å < λ < 6 Å 1 × 10 ⁷ n/sec/cm ²	0.5 Å < λ < 8 Å or それ以上 7 × 10 ⁷ n/sec/cm ² (0.5 Å < λ < 3.9 Å のとき; 1 MW 時概算)
得られる情報	Åスケールの原子の3次元位置, 特に水素, 水の位置情報	同左
対象研究分野	無機・有機化合物および生体高分子の結晶構造解析	同左
試料サイズ	最小体積0.1 mm ³ , 標準体積1 mm ³ (断面積最大5 mmφ)	最小体積0.1 mm ³ , 標準体積1 mm ³ (1 MW 時) (断面積最大5 mmφ)
特殊環境	低温(100 K), 高温(353 K)	低温(30-100 K)
測定時間	約20日間(生体高分子) (試料体積20 mm ³ 時)(有機化合物測定も可能)	標準約0.5日間(有機化合物) 標準約3日間(生体高分子) (試料体積2 mm ³ , 1 MW & 検出器30台時)
装置特徴	世界初の生体高分子用パルス中性子単結晶回折計	生体高分子用パルス中性子単結晶回折計で世界最高性能(検出器立体角がPCSの2倍; 検出器14台時)
装置運用状況	100 kW, 年間約125日, 運転中	平成20年12月供用運転開始, (1 MW 定常状態では年間約200日予定)
J-PARC 関連装置		iMATERIA(茨城県材料構造解析装置)

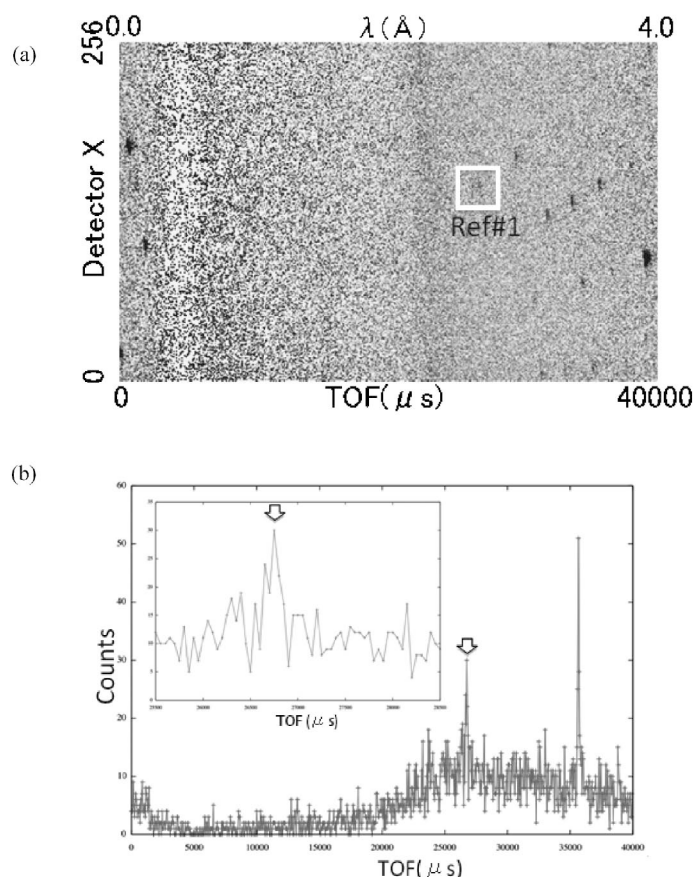


図3 タンパク質 RNaseA の iBIX 回折像。(a) 横軸時間/波長で縦軸 Y 方向を積算したある検出器の X 番目のピクセルでの中性子強度, (b) 図 3(a) の白枠内の積分強度を, 時間軸を横軸にした中性子強度プロファイル, 左上の小さな枠はプロファイル拡大図. d = 1.4 Å の反射が確認できた. 約 20 kW 運転時 18.7 時間露光. 波長走査範囲 0.5-4.0 Å. 試料結晶体積 12.5 mm³, 単位格子: a = 30.4 Å, b = 38.6 Å, c = 53.4 Å, β = 105.8°.

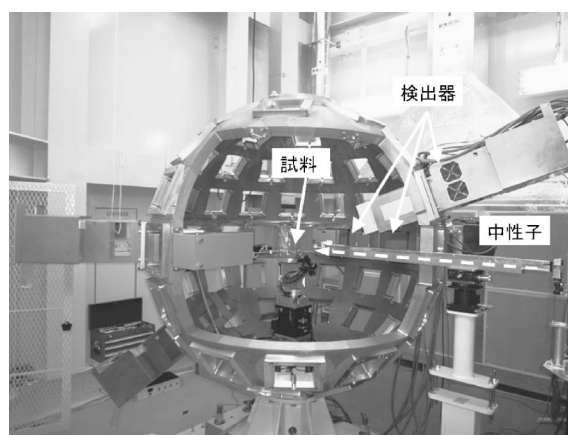


図4 iBIX 本体; 検出器と試料位置. 試料-検出器距離は 45 cm.

J-PARC では高強度パルス中性子の特長を活かし, 前述のように測定試料の個数を増したり, 結晶成長しにくい試料への展開やより大きな分子への適用が可能となる. また, 25 Hz (繰返周期 0.04 秒) を基本とした時分割測定も, 試料の選択によっては可能となるだろう. 平成 20 年 (2008 年) 度の iBIX 20 kW 供用運転において, 18.7 時間露光で 1.5 Å 付近まで十分な分解能の反射が確認されているタンパク質 (RNaseA) もあり, 4-5 年後の 1 MW 時運転に向けて確実かつ大きな希望を持つことができた (図 3).

既設装置との比較については, JRR-3 との比較が現実的ではあるが, 同じパルス中性子を用いている米国ロスアラモス研究所の生体高分子用中性子回折装置と比較しやすいので, これを表 1 に示した.

3. iBIX 装置を活用するために

本装置は2008年12月より供用を開始した(図4)が, J-PARCの低出力運転(~20 kW)のためのビームが弱いこと, 供用運転日数が短いことおよびデータ処理ソフトウェアの最終的な整備が残っていることなどから, 平成21年度も含めて生体高分子については短時間テスト測定のみ, 有機化合物については小数の試料のみのフルデータセットを収集する予定である. このような状況から, 少なくとも平成21年度いっぱい, 分解能のよいデータを早期に測定したいなら, JRR-3内のBIX-3(担当: JAEA 玉田氏), BIX-4(担当: JAEA 栗原氏)にご相談するか, 著者経由でご連絡いただくことを勧める. なお, iBIXの開発については, 文献(1)~(6)を, 内外の最新の研究については文献(7)のレビューをご覧ください. また, 茨城県中性子利用促進研究会や産業利用促進研究会にiBIX利用を目指した研究会が設けられている. これら研究会では, 中性子結晶構造解析のノウハウ

から最新の研究情報, J-PARCの状況等についての情報交換を行っている. これらを利用して中性子単結晶回折装置の利用が広まることを期待している.

文 献

- (1) I. Tanaka, *et al.*: Nucl. Instr. Meth. A, **600**(2009), 161-163.: iBIX 建設全般についての解説最新版
- (2) T. Hosoya, M. Katagiri, *et al.*: Nucl. Instr. Meth. A, **600**(2009), 217-219.: iBIX 成立に欠かせない検出器開発の紹介
- (3) T. Ohhara, *et al.*: Nucl. Instr. Meth. A, **600**(2009), 195-197.: iBIX のデータ処理ソフトウェア開発の紹介
- (4) 田中伊知朗: 日本結晶学会誌, **50**(2008), 13-17.: iBIX 建設全般についての日本語解説最新版
- (5) K. Kusaka, *et al.*: Physica B, **385-386**(2006), 1062-1065.: iBIX の装置設計シミュレーションについての紹介
- (6) S. C. M. Teixeira, N. Niimura, I. Tanaka, *et al.*: **345**(2008), 133-151.: iBIX を含む内外の生物用中性子装置の最新レビュー
- (7) N. Niimura, *et al.*: Curr. Op. Struct. Biol., **18**(2008), 593-600.: iBIX 紹介を含む中性子構造生物学の最新レビュー