

平成28年12月16日

茨城大学
日本原子力研究開発機構
J-PARCセンター
茨城県

【プレスリリース】

タンパク質単結晶の回折斑点強度を高精度に決定する手法 パルス中性子を用いた回折データで世界初の実用化 J-PARC内の茨城県生命物質構造解析装置 iBIX により確立

茨城大学フロンティア応用原子科学研究センターの矢野 直峰 助教らとJ-PARCセンターによる研究グループが、タンパク質単結晶のパルス中性子回折において、回折斑点強度をより高精度に決定するプロファイルフィッティング法を実用化することに成功しました。

これは大強度陽子加速器施設・J-PARC（茨城県東海村）の物質・生命科学実験施設に茨城県が設置した「茨城県生命物質構造解析装置 (iBIX)」で確立したものです。同装置では、強度を得るため非対称な波長領域をもつパルス中性子を使用していますが、回折斑点の強度決定についても、従来の積算法より高精度な方法の確立が求められていました。今回、研究グループでは、回折斑点の弱い強度も精度良く決定できる「プロファイルフィッティング法」を、タンパク質単結晶のパルス中性子回折で実用化することに、世界で初めて成功しました。実用化した方法は回折データ処理ソフト STARGazer に実装され、ユーザーが容易に利用できるようになりました。

これにより、タンパク質中の水素原子やプロトンの位置や存在についてより信頼性の高い情報を得ることができるようになり、エネルギー問題や創薬などの分野への貢献が期待されます。

今回の成果は、2016年12月1日に英国科学雑誌「Nature」の姉妹誌でオープンアクセス誌の「Scientific Reports」に掲載されました。

◆ 背景

中性子回折には、単波長の原子炉中性子源を用いる方法と、さまざまな波長をもつパルス中性子源を用いる方法があります。パルス中性子源は強度が強く、測定時間を大幅に短縮できるという利点があり、タンパク質の単結晶の回折への適用が広がっています。世界に導入されているパルス中性子源としては、イギリスの ISIS^(註1)、アメリカの SNS^(註2)、日本の J-PARC があり、ヨーロッパや中国でも ESS^(註3) と CSNS^(註4) といった施設が建設中で、タンパク質中性子回折データ測定の世界潮流はパルス中性子源に移行しています。

X線源に比べれば中性子源の強度は著しく弱く、分子量が大きいタンパク質の中性子回折データについては、回折斑点の弱い強度をより高精度に決定する方法が必要になります。単波長のX線や原子炉中性子を用いたタンパク質の回折データに対しては弱い回折斑点強度を精度良く決定する方法が適用可能となっていますが、さまざまな波長をもつパルス中性子を用いた回折データに対しては反射が非対称な形をしているため、まだ十分に適用できていませんでした。

◆ 研究の概要

タンパク質中性子回折データ測定の世界潮流は、単波長の原子炉中性子源を用いた方法からパルス中

性子源を用いたものへと移行しているものの、そのデータ処理精度は芳しくありませんでした。今回の研究は、この状態の改善への第一歩を歩み出したものです。それまで単波長の X 線や原子炉中性子を用いた回折に使われていたプロファイルフィッティング法という高精度の手法を、パルス中性子を用いたタンパク質の回折において実用化することに成功しました。

J-PARC の強力なパルス中性子源とする iBIX (図 1) では、中性子が発生してから検出器に到達するまでの時間で波長を区別する「飛行時間法」と呼ばれる方法を用います。J-PARC の開発による、波長の識別能をもつ 2 次元検出器で測定される回折斑点は、検出器座標軸に波長軸を加えた 3 次元軸を持つこととなります。

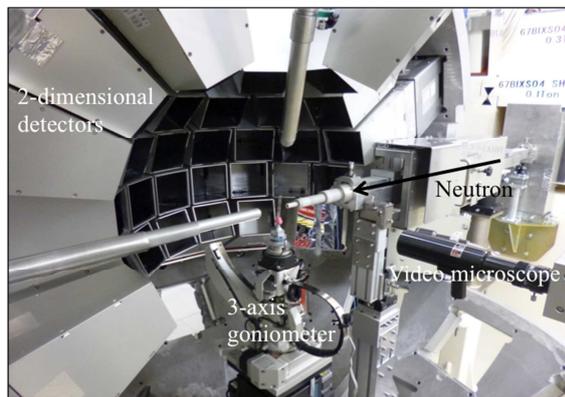


図 1 茨城県生命物質構造解析装置 iBIX。30 台の検出器と 3 軸ゴニオメーターを備えている。

研究グループでは、これまで 2 次元の強度分布をもつ X 線や原子炉中性子の回折データにのみ用いられていたプロファイルフィッティング法を、3 次元の強度分布をもつパルス中性子の回折データで検討しました。

今回の方法では、回折斑点の強度分布に関数を最小二乗法でフィッティングし、得られた関数を積分することで強度を見積ります。3 次元の強度分布に対して、どのようにして関数をフィッティングするのかという問題を解決するため、横軸波長、縦軸強度の 1 次元の強度分布に変換しました。この強度分布は非対称な形状をしています。単波長の X 線や原子炉中性子の回折データ処理で使用されている対称なガウス関数を用いて非線形最小二乗法によりフィッティングすると、強度分布に対して一致しません(図 2 左)。回折斑点の非対称な強度分布に対して一致の良い非対称な関数を検証した結果、4 つの関数が適用可能でした。その中からパラメータ数が 5 個と少ない、ガウス関数と指数関数を畳込んだ関数を使用することにしました(図 2 右)。

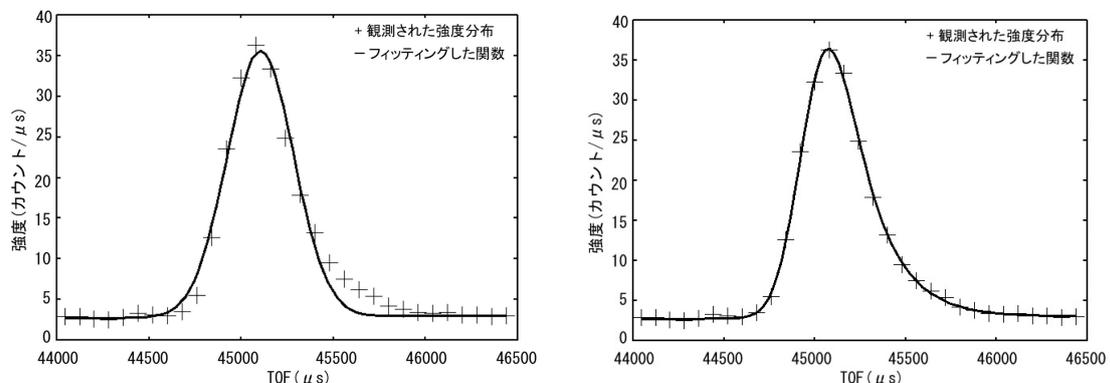


図 2 横軸 TOF (註5) の非対称な強度分布に関数を非線形最小二乗法でフィッティングした結果
左) 対称なガウス関数でフィッティング
右) 非対称なガウス関数と指数関数を畳込んだ関数でフィッティング

次に、「同一の結晶向きにおいて同一の検出器で観測された回折斑点では、波長が近いと強度分布の形状が似ている」という仮定に基づいて、強度の弱い回折斑点の強度を決定する手順を検討しました。2つのタンパク質単結晶の中性子回折データにプロファイルフィッティング法を適用したところ、従来法である積算法^(註6)と比べて回折斑点の強度を精度良く決定することができました。標準的な試料であるリボヌクレアーゼ A (リボ核酸を分解する酵素の一種) を例とした場合、回折データの精度を示す指標の1つである R_{int} ^(註7) が最も強度の弱い回折斑点群で 0.375 から 0.280 へと絶対値で 9.5% 低下しました。強度の弱い回折斑点に対して特に有効であり、タンパク質の回折データ処理に適した方法であるといえます。実用化した方法は回折データ処理ソフト STARGazer に実装され、iBIX のユーザーが容易に利用できるようになりました。

◆今後の展望

今後、J-PARC の加速器出力が 1 メガワットへ増加することで、中性子回折データの測定時間が短くなり、より多くのタンパク質で、水素原子やプロトンの位置を精度良く決定できるようになります。今回実用化した方法を用いることで、より信頼度の高い互変異性現象の観測、水素結合の有無やアミノ酸側鎖の水素原子の位置決定につながります。これらはエネルギー変換機構の解明やドラッグデザインの基礎となり、エネルギー問題の解決や創薬などに貢献することが期待されます。

◆発表論文の情報

<論文タイトル>

Application of profile fitting method to neutron time-of-flight protein single crystal diffraction data collected at the iBIX

<著者名>

N. Yano, T. Yamada, T. Hosoya, T. Ohhara, I. Tanaka and K. Kusaka

<雑誌名>

Scientific Reports

<掲載番号>

Sci. Rep., 6, 36628; doi: 10.1038/srep36628, 2016

<掲載日>

2016 年 12 月 1 日掲載

【発表者】

茨城大学フロンティア応用原子科学研究センター 産学官連携助教 矢野 直峰

TEL: 029-287-3233 E-mail: naomine.yano.fron@vc.ibaraki.ac.jp

茨城大学フロンティア応用原子科学研究センター 産学官連携教授 日下 勝弘

TEL: 029-287-3245 E-mail: katsuhiko.kusaka.1129@vc.ibaraki.ac.jp

【報道関係のお問い合わせ】

茨城大学 広報室 (担当: 山崎)

TEL: 029-228-8008 FAX: 029-228-8019 E-mail: koho-prg@ml.ibaraki.ac.jp

日本原子力研究開発機構 広報部 報道課長 佐藤 仁昭

TEL: 03-3592-2346 FAX: 03-5157-1950 E-mail: tokyo-houdouka@jaea.go.jp

J-PARC センター 広報セクション

TEL: 029-284-4578 FAX: 029-284-4571 E-mail: pr-section@j-parc.jp

茨城県 企画部科学技術振興課 (担当: 鈴木)

TEL: 029-301-2529 FAX: 029-301-2498 E-mail: info-neutron@pref.ibaraki.lg.jp

【用語註】

(註1) ISIS

イギリスのオックスフォードシャーに建設されたパルス中性子源です。1985年に稼働を開始しました。

(註2) SNS (Spallation Neutron Source)

アメリカのオークリッジに建設されたパルス中性子源です。2006年に稼働を開始しました。

(註3) ESS (European Spallation Source)

スウェーデンで建設中のパルス中性子源です。2014年から建設が始まりました。

(註4) CSNS (China Spallation Neutron Source)

中国で建設中のパルス中性子源です。2011年から建設が始まりました。

(註5) TOF (Time-of-flight)

中性子が発生してから検出器に到達するまでの飛行時間を意味します。中性子は波長が短い程、飛行速度が速くなります。つまり、TOFが小さい程、中性子の波長が短くなります。

(註6) 積算法

回折斑点の強度を見積る方法の1つです。回折斑点が観測された各ピクセルの強度を足し合わせることで、回折斑点の強度を見積ります。

(註7) R_{int}

回折データの精度を表す指標の1つです。強度が等しくなる回折斑点間における平均強度からのずれを表します。値が小さい程、データ精度が良いことを意味します。