

高効率、高分解能で生体高分子や有機分子結晶の水素・水和構造を観測する 中性子単結晶回折装置

特徴

- 幅広い波長領域の高検出効率。高分解能な二次元検出器の開発により、タンパク質の構造解析データを高効率に測定
- 試料周りのオープンな空間により、様々な周辺機器を自由に配置可能

装置の仕様

主な仕様 (加速器出力: 1 MW 時)

- 測定可能格子長: $135 \times 135 \times 135 \text{ \AA}$ (過去最大の結晶格子体積を持つマンガンカタラーゼの単結晶構造解析で実証)
- 結晶サイズ: $\sim 1 \text{ mm}^3$
- 測定日数 : 4 日程度

試料環境機器

- ガス吹付型低温装置 (100 ~ 300 K)
- 高温装置 (300 ~ 600 K)
- 延伸装置 (荷重: 200 N、延伸量: 90 mm、延伸速度: 1 ~ 1000 $\mu\text{m}/\text{sec}$)

試料環境・外場機能



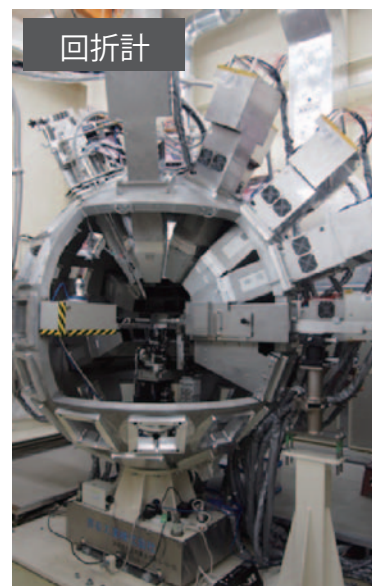
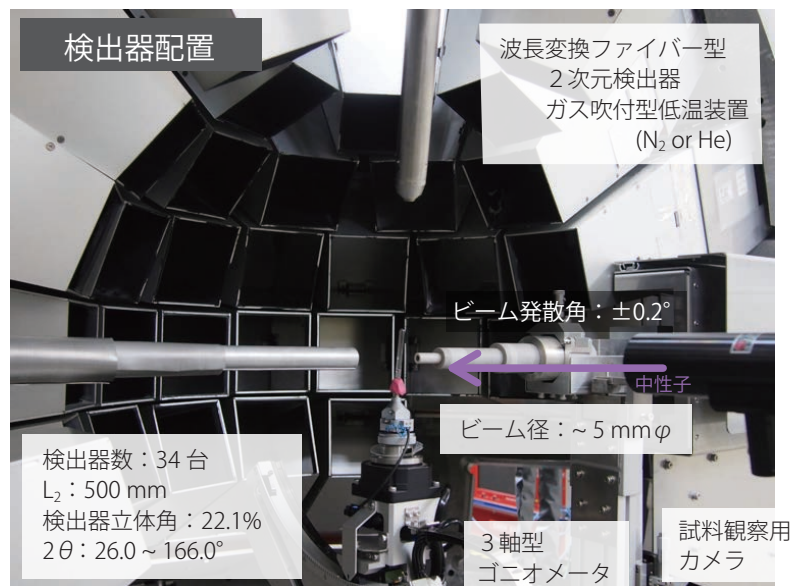
延伸装置

高温装置



ガス吹付型低温装置

装置構成



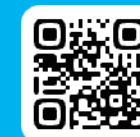
CONTACT

日下勝弘 (装置責任者)
katsuhiko.kusaka.1129@vc.ibaraki.ac.jp



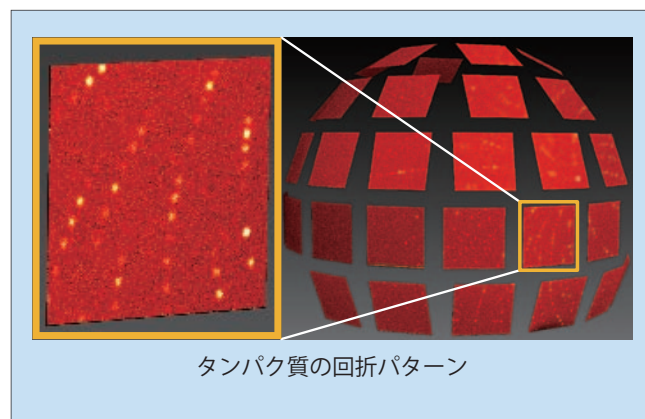
山田太郎 (副装置責任者)
taro.yamada.impromptu@vc.ibaraki.ac.jp





得られる情報

- タンパク質の水素原子、プロトンの位置からタンパク質と薬剤、インヒビターとの水素結合の有無およびプロトン互変異性
- アミノ酸残基の側鎖の OH、NH、NH₂ の水素の位置
- 重水 D₂O の D と交換可能な水素 H からその水分子の存在
- X線では困難な重元素の周りの水素原子の位置
- 放射線損傷が少ない、室温におけるタンパク質の構造
- X線では構造変化を受ける酸化還元酵素の無損傷構造
- タンパク質と化合物の相互作用における水素結合と疎水的相互作用の情報



主な研究例

- トランスサイレチンのアミロイド病を防ぐ 4 量体形成の鍵となる水素結合の観測
- セルロース分解酵素セルラーゼの加水分解過程のアミド-イミド互変異性を伴うプロトンリレーの可視化
- 光合成色素を合成するビリジン還元酵素 PcyA-基質複合体の二つの水素化状態と構造的特徴
- 中性子で最も体積が大きい (135 Å)³ の格子のカタラーゼの中性子結晶構造
- アミンをアルデヒドとアンモニアに分解する銅アミン酸化酵素の活性中心における非局在化プロトンの観測と触媒機構の巧妙な仕組み (下図左)
- 地球の窒素循環を担う酵素 (銅含有亜硝酸還元酵素) の触媒反応の電子経路の実証 (下図右)

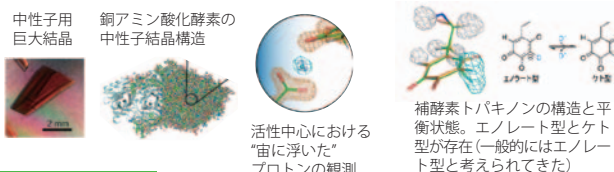
“宙に浮いた” 水素イオンから見える酵素触媒の巧妙な仕組み — 大型タンパク質の高分解能中性子結晶構造解析の成功によって明らかに —

背景

- 銅アミン酸化酵素：一級アミン類をアルデヒドとアンモニアに分解する酵素。活性中心には、銅イオンと補酵素トバキノンを含む。ヒトの血清中の本酵素は、糖尿病の発症にも関与
- 銅アミン酸化酵素の酵素反応機構の詳細を知るためには水素原子位置の可視化が必要

本研究のプレイクスルー

- 記録を大幅に上回る大型タンパク質 (分子量 70,600) の中性子結晶構造解析に成功した
- 酵素反応のしくみの解明に欠かせない“水素イオンの正確な位置”を明らかにした



iBIX の貢献

- 銅アミン酸化酵素の高精度・高分解能 (高解像度) な中性子結晶構造解析用データ取得し、水素原子を含んだ立体構造決定に成功した

研究成果の意義

- 中性子結晶構造解析の適用範囲を大きく広げ、高分子量の有用タンパク質や薬剤開発の標的タンパク質の水素原子を含んだ立体構造決定につながる事が期待できる
- 中性子結晶構造解析がこれまで予想されなかった構造の存在や作用機構を明らかにできることを実証

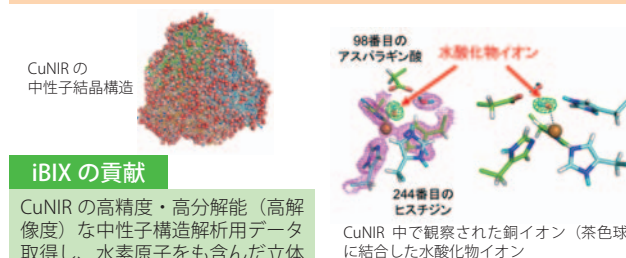
地球の窒素循環を担う酵素の反応機構を解明 — 銅含有亜硝酸還元酵素 (CuNIR) の全原子構造を高精度に決定 —

背景

- CuNIR: 土壌や水域中の窒素化合物が窒素分子へと変換される過程 (脱窒) の一部を担う鍵となるタンパク質 (亜硝酸イオンを一酸化窒素ガスに変える)
- CuNIR の化学反応 (亜硝酸イオンへ水素イオンが渡される過程) の詳細を知るためには水素原子位置の可視化が必要

本研究のプレイクスルー

- CuNIR の活性中心の銅イオンに水酸化物イオンが結合した状態の可視化に成功
- これまでの実験から提案されていた化学反応機構を正しく書き換える可能性を示し、反応に必要な電子がタンパク質内を流れる経路について実験的な証拠を得ることに成功



iBIX の貢献

- CuNIR の高精度・高分解能 (高解像度) な中性子結晶構造解析用データ取得し、水素原子をも含んだ立体構造決定に成功

今後の展開

- 産業応用：脱窒作用の働きを強化した微生物の利用、人工酵素の開発
- 一酸化二窒素ガス (温室効果ガス) の低減 = 大気環境の改善への貢献
肥料として環境中に過剰流入した窒素化合物の低減 = 環境汚染の改善への貢献