

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 21 日現在

機関番号：82110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22740280

研究課題名（和文） wide-q 測定による蛋白質の構造および機能に関する研究

研究課題名（英文） The study of structure and function of protein using wide-q neutron scattering measurement

研究代表者

高田 慎一 (TAKATA SHINICHI)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・J-PARC センター・研究員

研究者番号：70435600

研究成果の概要（和文）：本研究では、これまで難しかった広域空間領域の測定（数～数百オングストローム）が可能になった日本原子力研究開発機構J-PARCセンター・物質生命科学実験施設に設置されたパルス中性子小角散乱装置（大観）を用いて、蛋白質水溶液の測定に行なうことで、水溶液中の蛋白質の構造解析、特に内部構造について詳細な知見得ることが目的である。本年度は、ミオグロビン、βラクトグロブリン、およびヘモグロビンの内部構造の異なる3種類の蛋白質溶液の測定を行なった。ミオグロビンおよびβラクトグロブリンの内部構造は、それぞれヘリックス構造およびβシート構造を主構造に持つ蛋白質であり、散乱ベクトル $q=0.1-1.5[\text{\AA}^{-1}]$ 付近にそれぞれの内部構造に起因する散乱プロファイルが観測された。ヘモグロビンは単体ではミオグロビンと類似の構造であるが、四量体で構成されている蛋白質であり、広い $q$ 領域に対して階層的な散乱プロファイルが得られた。これらの蛋白質はX線結晶構造解析により原子の3次元座標データが得られており、その座標データより散乱プロファイルを計算することができる。今回測定した水溶液中の蛋白質の広域空間領域の散乱プロファイルと比較すると、low- $q$ 側では比較的一致しているが、high- $q$ 側では一致しない領域が観測された。今後high- $q$ 側において影響が考えられる蛋白質と水和水の構造を含めた解析法を検討し、high- $q$ 側での計算値との違いを明らかにしたい。

研究成果の概要（英文）：The small and wide angle neutron scattering instrument, TAIKAN, was installed on BL15 in the Materials and Life Science Experimental Facility (MLF) of J-PARC. The beam commissioning was started in January 2012, and Users program was started in March 2012. TAIKAN is designed for efficient measurement in wide- $q$  range of  $0.005 \sim 20 [\text{\AA}^{-1}]$ . 840  $^3\text{He}$  PSD tubes with 8mm in diameter and 500-1000 mm in effective length were mounted on three detector banks of small-, middle-, and high- angle. In this study, we measured three typical proteins of Myoglobin (Mb),  $\beta$ -Lactoglobulin (LG), and Hemoglobin (Hb) in solution by using TAIKAN, in order to verify the performance of wide- $q$  range. The internal structure of Mb and LG is Helix-rich and  $\beta$ -sheet-rich, respectively. Hb is composed of 4 sub-units. The sub-unit structure is similar to Mb. According to those three neutron scattering profiles calculated from each atomic coordinate data of Protein Data Bank, they show the drastically difference by the influence of each internal structure within the range of  $q$  from 0.2 to  $1[\text{\AA}^{-1}]$ . This indicates the benefit of wide- $q$  measurement to enable the analysis of the intramolecular domain structures and secondary structures.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	300,000	90,000	390,000
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学、生物物理・化学物理

キーワード：生物物理、小角中性子散乱

### 1. 研究開始当初の背景

高分子、蛋白質などのソフトマター物質は、巨大な分子構造から原子サイズの領域までの階層構造を有している。その広い空間スケールの構造が明らかになれば、様々な物質の機能解明や新規機能性物質の開発などが飛躍的に促進する。多くの蛋白質分子は、水溶液中で機能を発現する。そのため水溶液中の蛋白質分子の構造を明らかにすることは、病理解明やドラッグデザイン、食品科学などの分野において特に重要である。蛋白質の構造解析に広く用いられる方法は、X線結晶回折法および核磁気共鳴(NMR)法が挙げられる。前者は数十ミクロン以上の結晶試料が必要であり、後者は水溶液試料にて測定可能であるが分子量は数万以下に限られる。蛋白質は水溶液中にて生命機能の重要な役割を果たすが、その水溶液中での立体構造が知られていない蛋白質も多い。散乱法を用いた構造解析において、小角散乱装置( $q < \text{約 } 0.2[\text{\AA}^{-1}]$ )および回折散乱装置( $q > \text{約 } 1.5[\text{\AA}^{-1}]$ )が頻用されている。しかし両者の測定範囲を繋ぐ領域、約  $0.2 < q < 1.5[\text{\AA}^{-1}]$  (以後この領域を「missing領域」と呼ぶ)、を測定できる装置は殆どなく、この領域にて観測される物理化学的な現象は殆ど判明されていない。この missing 領域にて観測される現象を散乱理論による解析と実験により明らかにし、広域空間の構造解析法を確立することが目的であった。

### 2. 研究の目的

これまで難しかった広域空間領域の測定(数～数百 $\text{\AA}$ )が可能になった日本原子力研究開発機構 J-PARC センター・物質生命科学実験施設に設置されたパルス中性子小角散乱装置(大観)を用いて、蛋白質水溶液の測定を行なうことで、水溶液中の蛋白質の構造解析、特に内部構造について詳細な知見得ることが目的である。

### 3. 研究の方法

研究代表者らが建設したパルス中性子小角散乱装置(大観)を用いて、ミオグロビン、 $\beta$ ラクトグロブリン、およびヘモグロビンの

内部構造の異なる3種類の蛋白質溶液の測定を行なった。ミオグロビンおよび $\beta$ ラクトグロブリンの内部構造は、それぞれヘリックス構造および $\beta$ シート構造を主構造に持つ蛋白質である。ヘモグロビンは単体ではミオグロビンと類似の構造であるが、四量体で構成されている蛋白質であり、広い $q$ 領域に対して階層的な構造を有する。それらの3次元座標データより散乱プロファイルを計算すると以下ようになる。

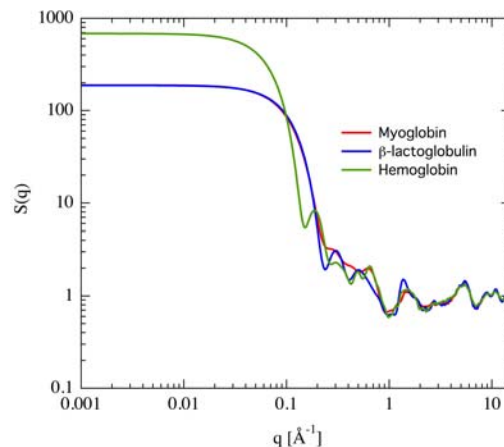


図1 ミオグロビン、ラクトグロブリン、ヘモグロビンの構造因子  $S(q)$  プロファイル

散乱ベクトル  $q=0.1-1.5[\text{\AA}^{-1}]$  付近にそれぞれの内部構造に起因する散乱プロファイルが得られる。これらの計算結果をもとに、実際の測定データと比較検討することにより、水溶液中での蛋白質の内部構造を解析する。

#### 4. 研究成果

上述の3種類の蛋白質を測定した結果を次に示す。

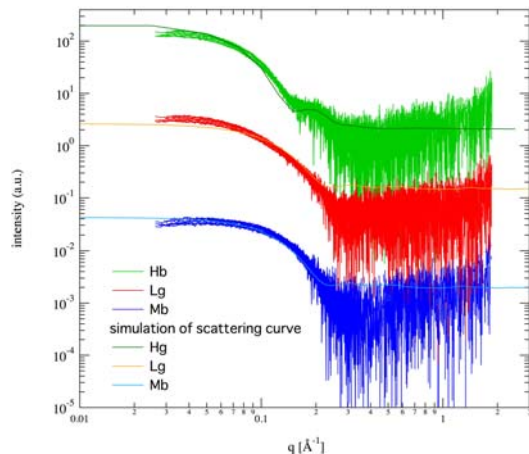


図2 ミオグロビン、ラクトグロブリン、ヘモグロビンの測定結果と各蛋白質の散乱プロファイルの計算結果

上から、ヘモグロビン、ミオグロビン、ラクトグロブリンの順に、測定結果と各蛋白質の散乱プロファイルを非干渉性散乱強度および干渉性散乱強度を考慮した計算結果を示している。なお本データは、大観の小角検出器バンクだけのデータであり、データは見やすいようにシフトファクターを掛けている。この結果が示すように、大観を用いることにより、0.03から1[Å<sup>-1</sup>]までの幅広い範囲までの散乱プロファイルを測定することができた。その結果、low-q側では比較的散乱プロファイルと計算値は一致しているが、high-q側では一致しない領域が一致していないことがわかる。今後high-q側において影響が考えられる蛋白質と水和水の構造を含めた解析法を検討し、high-q側での計算値との違いを明らかにしたい。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計3件)

- ① Shinichi Takata, Software Development of the Smaller-Angle Neutron Scattering Instrument TAIKAN of J-PARC, 20-24 November, 2011, Tsukuba (Japan)
- ② 高田慎一、BL15 大観の性能およびソフトウェア開発、第3回 MLF シンポジウム、2012.1.19、東海村(日本)
- ③ M. Sugiyama, E. Kurimoto, S. Takata, K. Mori, T. Fukunaga, K. Kato, SANS study on subunit configuration of

Proteasome Activator 28, 5th European Conference on Neutron Scattering, 17-22 July, 2011, Prague (Czech Republic)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

高田 慎一 (TAKATA SHINICHI)  
独立行政法人日本原子力研究開発機構・  
J-PARCセンター・研究員  
研究者番号：70435600

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし