

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：12101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16083

研究課題名（和文）タンパク質長格子結晶のパルス中性子回折データの強度分離法の開発

研究課題名（英文）Development of peak deconvolution method for pulsed neutron diffraction data of protein long lattice crystals

研究代表者

矢野 直峰（Yano, Naomine）

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

研究者番号：60724721

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：茨城県東海村の大強度陽子加速器施設J-PARC内に設置されているタンパク質単結晶用中性子回折装置iBIXは格子長の1辺が135 Åを超えた場合、中性子の波長、散乱角、測定方位によっては一部の回折斑点が重なり、積分強度を決定出来ないという問題が生じる。そこで、iBIXの測定対象を拡大するためにプロファイルフィッティング法を応用した回折斑点の強度分離法を開発を行った。開発した方法はiBIX専用のデータ処理ソフトSTAR Gazerへ実装を行い、グラフィカルインターフェース上で使用出来るようにした。マニュアルを作成し、ソフトと共にユーザーがwebからダウンロード出来るようにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質単結晶用中性子回折装置iBIXでは回折斑点の重なりが生じない測定対象は格子長の1辺が135 Åまでであった。強度分離法の開発により一部の回折斑点が重なった場合でも積分強度の決定が可能となった。今後、J-PARCの加速器出力が最大の1MWに達する予定で、これまで測定時間が長くなることから対象とみなされていなかった長格子結晶でも中性子結晶構造解析が可能になることが予想される。加速器出力の増加と強度分離法の開発によりiBIXの測定対象が拡大し、創薬、エネルギー開発、産業の発展などに貢献する可能性が考えられる。

研究成果の概要（英文）：The iBIX neutron diffractometer for protein single crystals installed in the high-intensity proton accelerator facility J-PARC in Tokai, Ibaraki Prefecture, is partly depending on the neutron wavelength and scattering angle  $2\theta$  and has the problem that diffraction spots overlap and the intensity cannot be determined when one side of the lattice length exceeds 135 angstrom. Therefore, in order to expand the measurement target of iBIX, we have developed a method for separating the intensity of diffraction spots by applying the profile fitting method. The developed method was implemented in the iBIX-dedicated data processing software STAR Gazer so that it could be used on a graphical interface. We created a manual so that users can download it from the web together with the software.

研究分野：タンパク質中性子結晶構造解析

キーワード：タンパク質 中性子結晶構造解析 連続波長中性子 データ処理法 強度分離

## 1. 研究開始当初の背景

茨城県東海村の大強度陽子加速器施設 J-PARC 内でタンパク質単結晶用中性子回折装置 iBIX が稼働したことにより、タンパク質の中性子結晶構造解析が実現し、水素原子やプロトンの位置を決定出来る可能性が拡大した。光合成に関わるピリンの合成を触媒する酵素 PcyA (Unno *et al*, 2015, *J Am Chem Soc.*) やセルロースを分解する酵素 P<sub>CCe</sub>145A (Nakamura *et al*, 2015, *Sci Adv.*) など iBIX でのタンパク質中性子結晶構造解析の例も増えてきている。中性子は X 線に比べ、水素原子やプロトンの位置決定の精度が炭素・窒素・酸素原子と同程度という長所を持つが、中性子源の問題からビーム強度が放射光 X 線に比べて 11 桁近く弱いという短所を持つ。これまで、膜タンパク質を含むより大きな格子定数をもつ結晶(長格子結晶)では測定にかかる時間が非現実的なため、解析対象として想定されていなかった。

平成 31 年度以降に J-PARC の加速器出力が最大の 1MW に達する予定で、長格子結晶でも本格的に中性子結晶構造解析が行われるようになる。しかし、結晶性が低く、体積の大きな結晶を調製する事が難しい長格子結晶では回折斑点の強度が弱く、高い精度の回折データを得ることが難しい。また、iBIX の設計上の理由から結晶格子長の 1 辺が 135 以上の結晶では中性子の波長、散乱角、測定方位により回折斑点が重なることがある。現在のところ、iBIX 用データ処理プログラムには、重なった回折斑点の個々の積分強度を決定する手順は含まれていないため、重なった回折斑点が存在するとそれらで積分強度を決定することが出来ない。一方で、膜タンパク質など比較的格子定数が大きくなるタンパク質には、プロトンや物質の輸送・光合成など生体内で重要な役割を果たしているものが多い。このため、X 線結晶構造解析では決定する事が難しい長格子結晶の水素原子やプロトンの位置を中性子結晶構造解析によって明らかにすることへの期待は大きい。膜タンパク質を含む長格子結晶でも中性子結晶構造解析を可能にするため、精度の高い強度の決定方法と、重なった回折斑点から個々の強度を決定する方法を開発することが構造生物学の研究者達から切望されている。

## 2. 研究の目的

長格子結晶の重なった回折斑点から個々の積分強度を決定する方法を開発することで、これまで比較的分子量のタンパク質でしか適用する事が出来なかった中性子結晶構造解析の適用対象を広げることを目的とする。

## 3. 研究の方法

重なった回折斑点の個々の積分強度を決定するために、プロファイルフィッティング法を応用することにした。格子定数が  $a = b = c = 133$  で、分解能が 2.4 のカタラーゼの回折データを用いて、(1)バックグラウンド関数決定方法の検討、(2)個々の回折斑点で重なりの有無を判断する手順の検討、(3)横軸波長の 1 次元強度分布において重なりが無い領域を判断する手順の検討、(4)強度決定可能な重なり具合の検討、(5)データ処理ソフトウェアへの実装、マニュアルの作成、web へのアップロードを行った。

## 4 . 研究成果

### (1) バックグラウンド関数決定方法の検討

中性子の波長が短くなる程、波長軸方向で回折斑点の間隔が密になり、重なってくることから、積分領域の XY 平面毎にバックグラウンドを決定し、横軸波長の 1 次元強度分布のバックグラウンド関数を決定することにした。

### (2) 個々の回折斑点で重なりの有無を判断する手順の検討と

### (3) 横軸波長の 1 次元強度分布において重なりが無い領域を判断する手順の検討

個々の回折斑点の積分領域とバックグラウンド領域を基に重なりを判断を行うことにした。対象とする回折斑点の積分領域が隣接する回折斑点の積分領域+バックグラウンド領域に入っていた場合、重なっていると判断し、重なった領域はフォワーグラウンド関数のフィッティングには使用しないことにした。

### (4) データ処理強度決定可能な重なり具合の検討

UB 行列から予測したピークトップ位置まで重なっている場合、フォワーグラウンド関数を最小二乗法でフィッティングすることが出来ないため、強度決定は不可能と判定することにした。予測したピークトップ位置が横軸波長の 1 次元強度分布のピークトップ位置とズレることも考慮して、判定することにした。

### (5) データ処理ソフトウェアへの実装、マニュアルの作成、web へのアップロード

開発した方法はユーザーが利用出来るように iBIX 専用のデータ処理ソフトウェア STARGazer への実装を行った。実装はこれまでデータ処理ソフトの開発に関わってきたソフト開発会社に依頼し、グラフィカルインターフェース上で使用出来るようにした(図 1)。マニュアルを作成し、ソフトウェアと共にユーザーが web からダウンロード出来るようにした(図 2)。

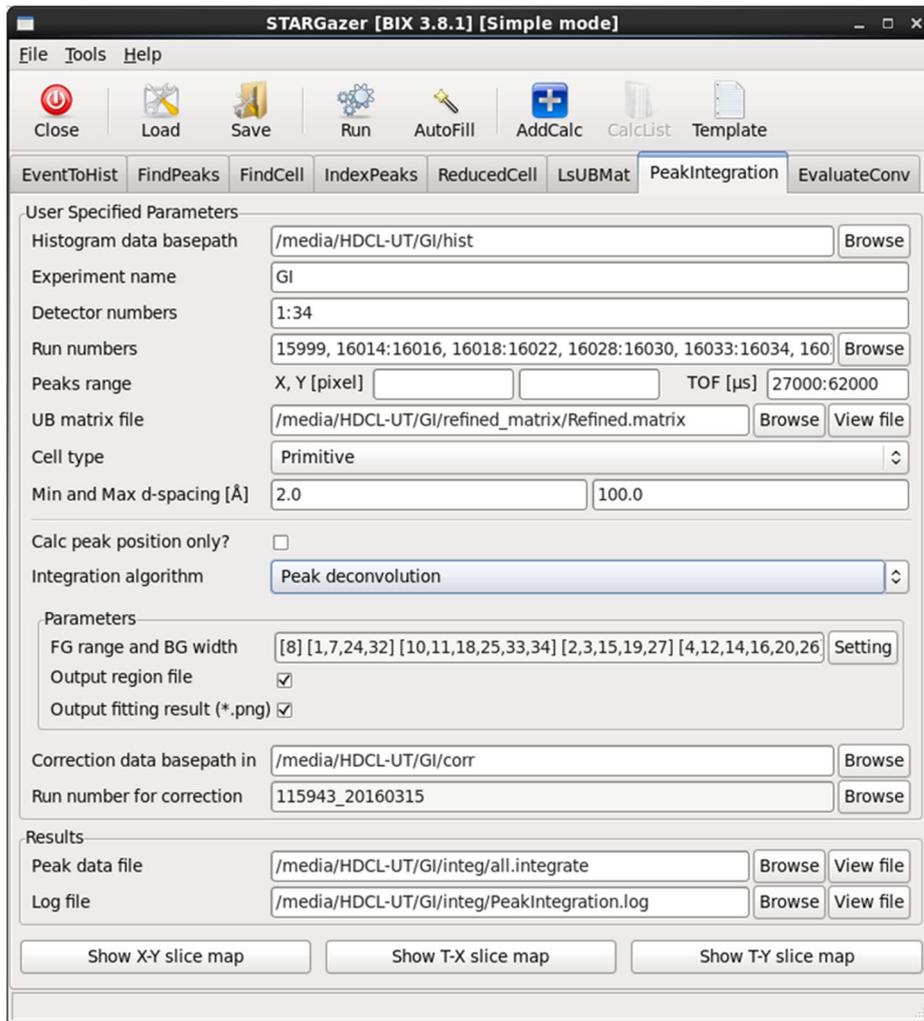


図1 データ処理ソフトウェアでの画面

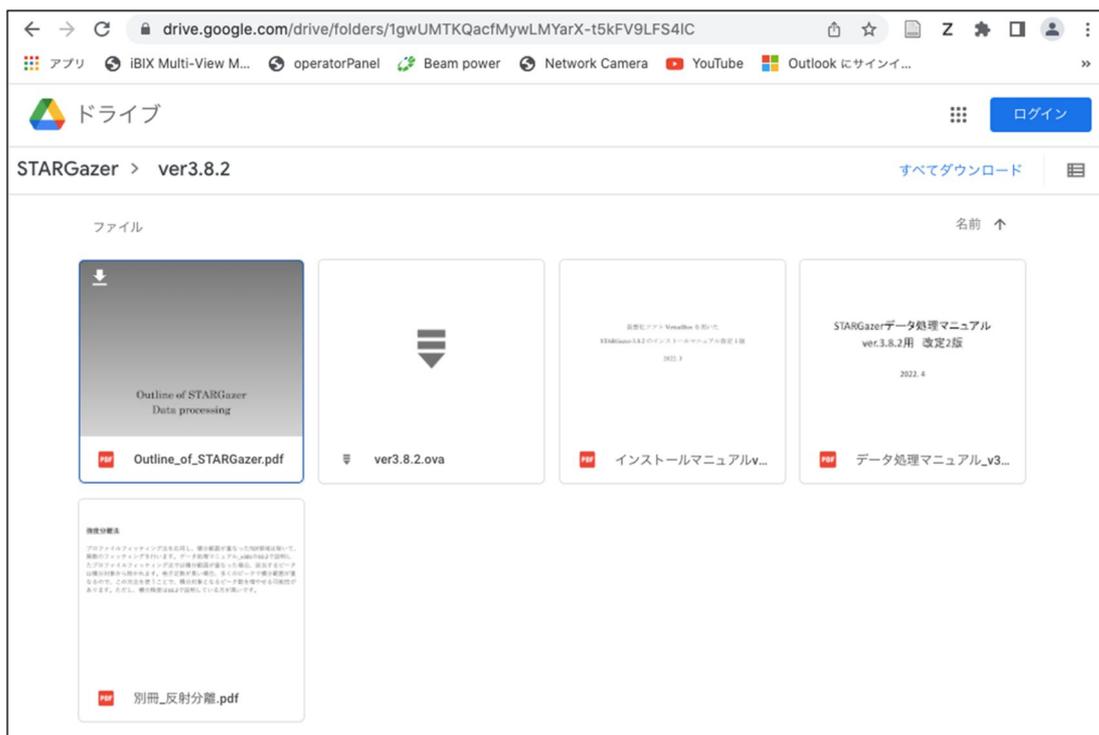


図2 データ処理ソフトウェアとマニュアルのダウンロード画面

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 矢野直峰 , 山田太郎 , 細谷孝明 , 大原高志 , 田中伊知朗 , 日下勝弘
2. 発表標題 飛行時間法により収集された中性子回折データ処理ソフト STARGazer の現状
3. 学会等名 量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢野直峰 , 山田太郎 , 細谷孝明 , 大原高志 , 田中伊知朗 , 日下勝弘
2. 発表標題 飛行時間法により収集された中性子回折データ処理ソフト STARGazer の現状
3. 学会等名 日本結晶学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢野直峰 , 山田太郎 , 細谷孝明 , 大原高志 , 田中伊知朗 , 日下勝弘
2. 発表標題 飛行時間法により収集された中性子回折データ処理ソフト STARGazer の現状
3. 学会等名 日本結晶学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢野直峰 , 山田太郎 , 細谷孝明 , 大原高志 , 田中伊知朗 , 日下勝弘
2. 発表標題 飛行時間法により収集された中性子回折データ処理ソフト STARGazer の現状
3. 学会等名 日本結晶学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naomine Yano, Taro Yamada, Takaaki Hosoya, Takashi Ohhara, Ichiro Tanaka, Katsuhiko Kusaka
2. 発表標題 Status of neutron time-of-flight single-crystal diffraction data processing software STARGazer
3. 学会等名 Conference of the Asian Crystallographic Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山田 太郎  (Yamada Taro)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------