

2.4 構造生物学

2.4.1 概要

X線回折・散乱を用いた構造生物学は第二世代、第三世代放射光X線施設の充実により過去20年の間に、単に構造を見る科学から構造と機能の関連を解き明かす科学として飛躍的な進歩を見た。ヒトゲノムプロジェクトやその他の広範囲なゲノム解析の成果を受けて、ポストゲノム科学の主要な担い手として35以上の構造ゲノムプロジェクトが全世界で進行中である。迅速に数多くの構造解析を行うためのハイスループット技術開発も急速に進歩し、構造解析の比較的やさしいバクテリア由来のタンパク質の構造解析は数多くの成果があがりつつある。今後の研究の重点は構造解析の困難な真核生物、特にヒトの健康に関わるタンパク質にシフトして来ている。また、タンパク質のシングルドメインの構造解析からタンパク質-タンパク質、タンパク質-DNA、タンパク質-RNA間の相互作用を複合体の構造解析により機能に結び付ける研究が主流となりつつある。これら、複合体は一般にX線構造解析に適した結晶を得ることが極めて困難であり、得られたとしてもミクロン程度かそれ以下の超微結晶であることが多い。また、全ゲノムの30%を占めるといわれる膜タンパク質およびそれらの複合体に関しても構造解析に使えるだけのタンパク質の調製および結晶化は困難を極める。このように、通常の第三世代までの放射光X線を用いても構造解析のできない系は分子生物学、細胞生物学、医学、薬学の分野で極めて多い。

第三世代の放射光では数ミクロン程度の結晶の構造解析が限界であり、ERLから得られる数十から百ナノメートル程度の超高輝度のビームを用いることで超微小結晶や、さらにはマルチドメインタンパク質や超分子複合体の単分子、ウィルス単体やオルガネラ単体の構造解析研究が実現すれば、構造生物学の新領域の開拓に繋がるであろう。これらナノメートルオーダーのサンプルの単分子構造解析で問題になるのはナノスケールのビームサイズ、サンプルサイズに対応してサンプルのハンドリング技術、すなわち、単分子を溶液から単離しビームラインまで運ぶだけでなく、3次元構造解析のために分子配向の制御等が問題となるであろう。

短時間のみ存在するtransientな複合体の構造解析の場合において、どうしても結晶化が不可能であり、単分子構造解析法が確立されるまでは、X線小角散乱を用いることで溶液中でしかも生体内と同様の条件下で複合体の全体構造を解析することができる。加えて、ERLのようにきわめて高輝度のビームが得られるとすると、ミリ秒未満の時分割領域で溶液X線散乱や筋肉単繊維のX線回折実験も可能となるであろう。

このように次世代の放射光X線を用いた構造生物学では、解析手法がブラッグ反射の領域からオーバーサンプリングを必要とする非結晶サンプルへ移行するであろう。そこで開発されるべき新規技術、方法論は、逆にX線散乱を用いた筋肉やマルチドメインタンパク質の構造解析における将来の方向と合致するところがあり、結晶、非結晶の両分野の融合により、構造生物学において新たなquantum leapが期待される。

2.4.2 目的指向型構造ゲノムプロジェクトと将来に残る重要問題

ゲノム計画の爆発的な進展に伴い、膨大な数のタンパク質をコードする遺伝子の塩基配列が明らかになりつつある。今後はこのような膨大な一次元データをいかにして細胞機能の理解につなげ、さらに生体機能の発現、医学利用等に発展させていくかがポストゲノム科学の緊急課題として問われている。その中核を成すのが、長年の構造生物学の進歩をもとに現在急速に研究が展開されている構造ゲノム科学である。そこでは絨毯爆撃的にタンパク質の基本構造を解いていく網羅的構造ゲノム科学と、ある特定の生物学的機能をターゲットとした目的指向型構造ゲノム科学の二つの考え方がある。いずれの場合もタンパク質の大量発現、精製、結晶化、結晶構造解析、も

しくは NMR 構造解析をバイオインフォマティクスを駆使しながらなるべく迅速に数多く解析することが謳われている。目的指向型構造ゲノム科学の場合はそれに加えて、得られた構造から機能との関連を分子生物学、細胞生物学、生化学的に解析することが重要である。世界各国で 35 以

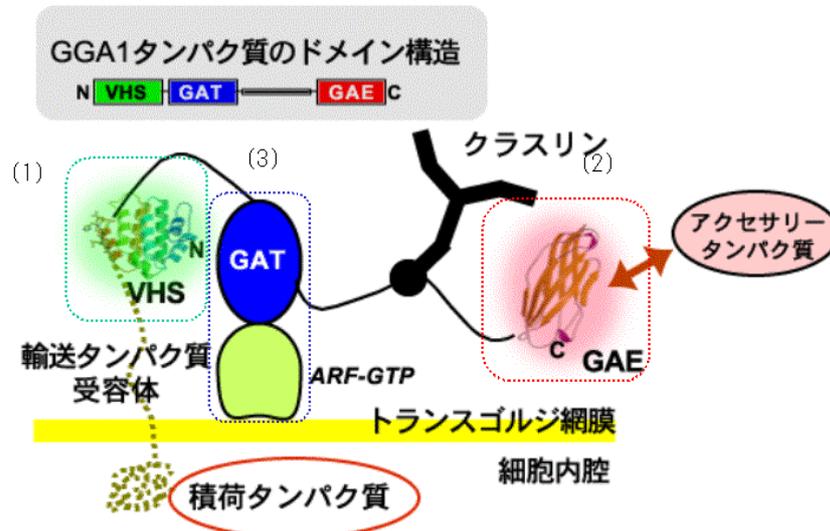


図 2.34: ヒト由来 GGA タンパク質のドメイン構造 (上) と結晶構造および関連タンパク質との相互作用 (下)。(1) は [1]、(2) は [2] を参照。

上の構造ゲノムプロジェクトが進められている中で、わが国では、平成 14 年度より文部科学省の「タンパク 3000 プロジェクト」における個別解析プログラムとして 7 つのテーマ (発生・分化と DNA の複製・修復、転写・翻訳、翻訳後修飾と輸送、タンパク質高次構造形成と機能発現、細胞内シグナル伝達、脳・神経系、代謝系) について全国の大学等の研究者達からなる 8 つの研究ネットワークが目的指向型構造ゲノム科学プロジェクトを開始することとなった。ここでは研究者の創意と自主性により生物学的・医学的に重要なタンパク質の構造・機能解析を実施し、5 年プロジェクト終了後も構造生物学研究の拠点として機能するよう、X 線結晶構造解析、NMR 構造解析、バイオインフォマティクス、医学、薬学、生化学等の分野の研究者が有機的チームを構成している。構造プロテオミクス解析関連技術の開発・整備を行うと共に、生物学的に重要なタンパク質について 5 年間で 500 の構造解析および機能解析を行っている。

たとえば、高エネ機構が 6 大学、4 研究所と進めている「翻訳後修飾と輸送」に関する目的指向型構造ゲノムプロジェクトでは、真核生物におけるタンパク質の糖鎖修飾と細胞内輸送について構造・機能解析を進めている。真核細胞内でリボソームにより合成されたタンパク質は、付加されたシグナルをもとに、種々の輸送機構によってそれぞれの目的地に輸送されるが、これらの目的地にタンパク質を正確に分配し輸送することは、細胞が生命活動を営むための必須条件である。実際、これらの細胞内輸送に関わるタンパク質に変異が起こり、誤った場所にタンパク質が輸送されることによって引き起こされる病気も多数存在している。従って、これらタンパク質輸送に関与するタンパク質群の機能を理解することは、基礎生物学と医学の両面から重要であり、分子細胞生物学の最重要分野の一つとして位置づけられている。

細胞内輸送で運び屋の実体であるクラスリン被覆小胞の制御を行うタンパク質として、ヒトでは 4 種類の AP 複合体と、近年見いだされた 3 種類の GGA タンパク質が知られている。ここで紹介する GGA1 タンパク質は 3 つのドメインからなり、それぞれが固有の機能を担っている (図 2.34)。

ここでは、X線結晶構造解析の手法を駆使し、それぞれのドメインの結晶構造と目的タンパク質との複合体との結晶構造を決定し、それぞれの構造・機能について明らかにした[1,2]。GGAのような複数のドメインからなるタンパク質で、各ドメインが他の分子と相互作用を行うことで細胞内輸送機能を発揮しているようなタンパク質の構造機能解析においては、実はタンパク質複合体全体の高分解能構造解析が重要である。X線結晶構造解析は分子量の大きなタンパク質複合体の高分解能構造解析に最も適しているが、GGAタンパク質に代表されるような輸送タンパク質とそれらの複合体全体を結晶化するのは極めて困難である。

また、約3割を占める膜タンパク質やそれらと他のタンパク質との複合体の構造解析は現在のところハイスループットに主眼を置いた構造ゲノム科学プロジェクトではほとんどカバーされておらず、少数の専門家グループがしのぎを削って重要な膜タンパク質の結晶構造解析に臨んでいるのが現状である。これまで研究の進んでいる複合体膜タンパク質はサブユニットに分かれているものの機能上サブユニットの組み合わせが変わらないようなものが多い。然るに、細胞内の膜タンパク質は実は、機能を複数のステップで行っており、各々のステップでサブユニットの組み合わせやパートナータンパク質が代わり、しかもそれが時々刻々と変わっていくことが多く、結晶解析用に大量に精製すること、またその後の結晶化が困難である。その最もよい例が真核生物の細胞内で細胞質と核を隔てている核膜に存在する巨大核膜孔複合体であろう(図2.35)。現在のところ、クライオ電顕で単分子構造解析を行う技術が唯一の候補者であるが、電子線のサンプルに与える影響がX線のそれに比べて極めて甚大であることを考えるとERLもしくはX-FELから得られるX線で単分子構造解析が行えるようになることが強く望まれる。上で述べたように、第三世代放射光X線では数ミクロン程度の微結晶の構造解析が限界であり、ERL/X-FELによってサブミクロンの超微小結晶や単分子複合体が解析できるようになれば、生物学上、また医学・薬学上の貢献は計り知れない。

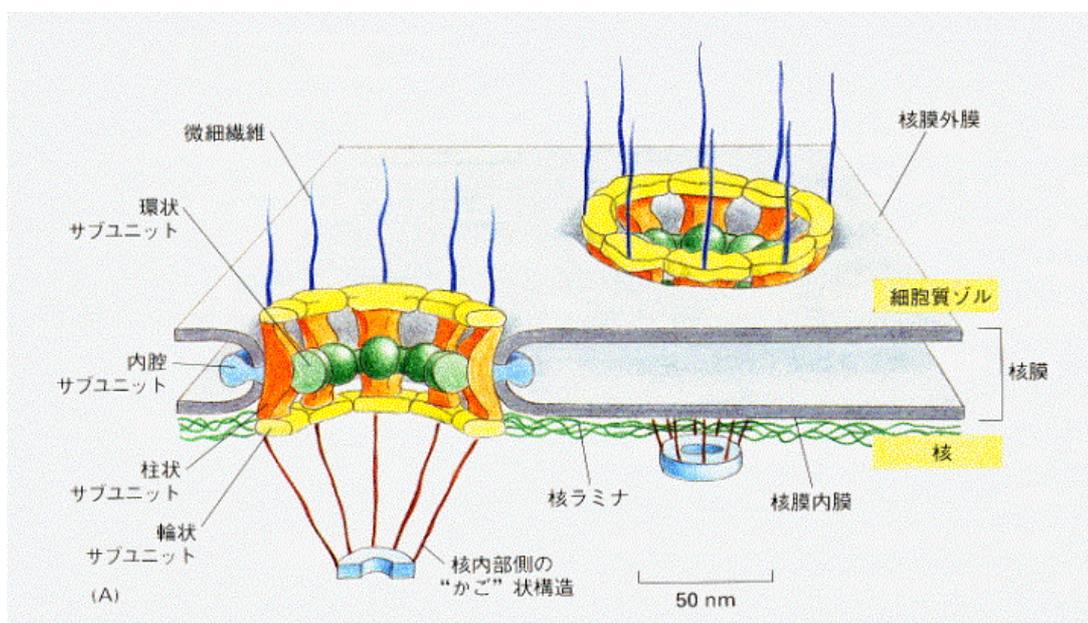


図 2.35: 核膜孔複合体の模式図。

2.4.3 単分子と超微小結晶の高分解能構造解析

2.4.3.1 オーバーサンプリング法

オーバーサンプリング法については別の章で詳細な記述があるので、ここでは、構造生物学研究に関連したことのみを述べる。

一般にタンパク質結晶の格子定数は数ナノメートルから超高分子複合体で百ナノメートル程度であり、通常の数ミクロンから数百ミクロンの結晶の各辺あたり少なくとも数百のタンパク質もしくは複合体が規則正しく並んでいる。結晶サイズが小さくなるにつれて各辺の分子数が少なくなり、Bragg 反射を生ずるような反射波の constructive addition が有効でなくなる。Bragg 反射の線幅は各辺の分子数 N の逆数に比例し、数分子になると Bragg 反射間の逆格子空間における格子点間の距離、格子定数の逆数と同程度になり、もはや普通の結晶構造解析ができなくなり、オーバーサンプリングを使う必要が出てくる (図 2.36)。

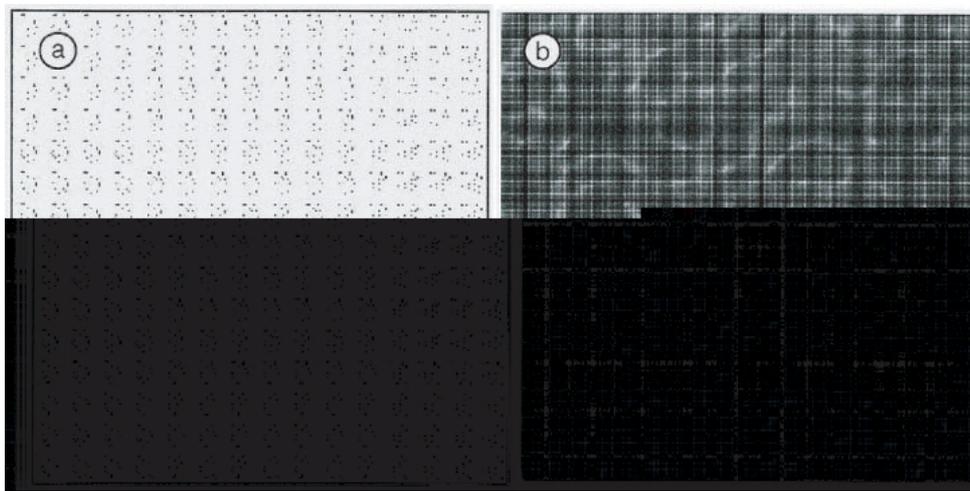


図 2.36: (a). A two-dimensional crystal with 15×15 unit cells. Unit cell dimensions: $5 \text{ nm} \times 5 \text{ nm}$; each unit cell contains 25 dummy atoms. Overall array size = $75 \text{ nm} \times 75 \text{ nm}$. (b). Simulated continuous (oversampled) diffraction pattern visible between Bragg peaks (logarithmic scale). Taken from the LCLS report.

3次元の構造解析の場合、構造因子 $|F(\mathbf{k})|$ と結晶構造 $f(\mathbf{x})$ との間に

$$|F(\mathbf{k})| = \left| \sum_{x=0}^{N-1} f(\mathbf{x}) \exp(2\pi i \mathbf{k} \cdot \mathbf{x}/N) \right| \quad (2.10)$$

という関係があり、独立の測定値 (X線回折強度、 $N^3/2$) と決定すべきパラメータの数 N^3 の比率 ($N^3 \div N^3/2 = 2$) からすると一軸あたり $2^{1/3}$ ($=1.26$) のオーバーサンプリングすることで原理的には全てのパラメータを決めることができる。この方法を用いて、J.W. Miao らが Rubisco という比較的大きなタンパク質単分子についてシミュレーションを行った結果を図 2.37 に示す [3]。

図 2.37(a),(b) は既に普通の方法で解かれた Rubisco の結晶構造からシミュレーションにより単分子回折像を計算したもので、ここで特に注意する必要があるのは、ここでは計算上すべての分子の向きがあらかじめわかっていると仮定していることである。以下で述べるように、実際にはレーザーピンセット等で持ってきた単分子もしくはナノクリスタルの配向が一度以下の精度でわかっている場合はありえず、逆格子空間内でのサンプリングにかなりの誤差が出ることである。もうひとつ重要な点は、計算上、S/N を上げるために約数十万の回折イメージを計算しなければな

らないことで、これは、通常の振動法では百程度でよいのに比べると2桁多い。にもかかわらずこのシミュレーションのオーバーサンプリング法による結果はもとの結晶構造が見事に再現している(図2.37(c))。

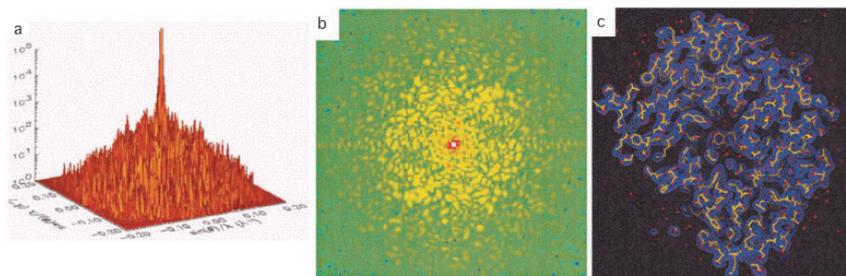


図 2.37: Simulated diffraction images ((a) & (b)) and a structure of Rubisco protein solved by the over-sampling method from the simulated diffraction data [3].

X-ray energy:	12 keV
Integrated X-ray intensity	3×10^{12} ($3.8 \times 10^6 / \text{\AA}^2$)
Detector	100 mm by 100mm (128 by 128 pixel)
Sample to detector distance:	100 mm
Resolution limit at the rim of the detector:	2.2 \AA

2.4.3.2 超微小結晶サンプルの可視化・ハンドリングと逆格子空間のサンプリング

放射光施設のタンパク質 X 線構造解析用ビームラインで現在広く使われている顕微鏡では数ミクロンの結晶を可視化するのが限度である。超微小結晶の場合特にコントラストが悪く、その可視化のためには、倍率を高くするだけでなく、トリプトファンからの蛍光や偏光フィルターの併用が考えられる。さらに、全焦点カメラを使うことで、3次元オブジェクトとして結晶の動きを追うことができ、ミクロン以下の超微小結晶の可視化に有効であろう。

単分子の場合の可視化をどのようにして行うかはさらに難題であるが、緑色蛍光タンパク質 (GFP) との融合タンパク質を作り、GFP の蛍光を用いて可視化することも考えられる。この際、あらかじめ、GFP 融合タンパク質としたときにももとのタンパク質の機能を損なっていないことを確認しておかねばならない。

次に、超微小結晶および単分子複合体のハンドリングであるが、最低でも数ミクロン以上はある結晶を拾うような通常の回折実験に使われているループでは単分子の操作はほとんど不可能である。単分子サンプルのハンドリングに最も有望な方法はレーザーピンセットと電磁場を利用してサンプルの向きをコントロールする方法の併用が考えられる。

現在、最も広く行われている単色 X 線を用いた振動法による結晶構造解析では、ループに入った結晶に X 線ビームを当てながら結晶をある角度ずつ回転させ、その間に得られる X 線回折像を 2次元検出器でデータ収集する方法を用いる。完全な 3次元データとするためには、回転角範囲が全体として連続かつ必要な逆格子空間を網羅的にサンプリングしている必要がある。また、データ精度をできる限り上げるためには結晶の回転中に X 線ビームが常に結晶の中心に当たっていることも同様に重要である。超微小結晶や単分子複合体の場合にも同様に逆格子空間を効率よくサンプリングする必要がある。この場合にはサンプルの小ささから、実験中常に回転中心を X 線ビームの中心に合わせておくことや、単分子複合体、超微小結晶の一つ一つをナノスケールのビーム中心に持ってきて、なおかつその向きを正確に制御する事は極めて困難である。上記レーザーピ

ンセットと電磁場によるタンパク質の配向の組み合わせにより新しい方法の開発が可能となるかもしれない。

2.4.3.3 シグナルの向上と X 線によるダメージ

ERL は X 線自由電子レーザーに比べてピーク輝度では劣るが、コヒーレンスに関しては申し分ない。また、SASE-FEL に比べて時間、波長ともよく制御された X 線が多数のビームラインに供給できるとされており、X 線による単分子のダメージを考慮した場合 ERL で 10^{23} 程度の輝度の X 線が出れば、光源におけるビームの形がいわゆる第三世代までの放射光の平たいビームとは違い、縦横のサイズが同じため、数十ナノメートルに効率よく集光でき、それを必要なだけ超微小結晶や単分子複合体に照射して S/N を上げることが可能であろう。

FEL の場合に単パルスで構造解析を行おうとすると X 線によるダメージが極めて大きいことがモデル計算で既に詳細に調べられている。それによると、たとえば Stanford 大学の LCLS から得られるとされる X-FEL のビームをリゾチーム単分子に照射すると、同じ光子数にしても露光時間が長すぎると極めて重篤なダメージがあることがわかった (図 2.38)。X-FEL はピーク輝度にして ERL よりも何桁も高いことから、たとえ X-FEL 単パルスでも構造解析が極めて難しいということになるが、逆に ERL の場合はナノビームの平行度、エネルギー分解能では十分であるはずなので、必要に応じて測定を繰り返すことで X 線によるダメージをある程度コントロールできるであろう。

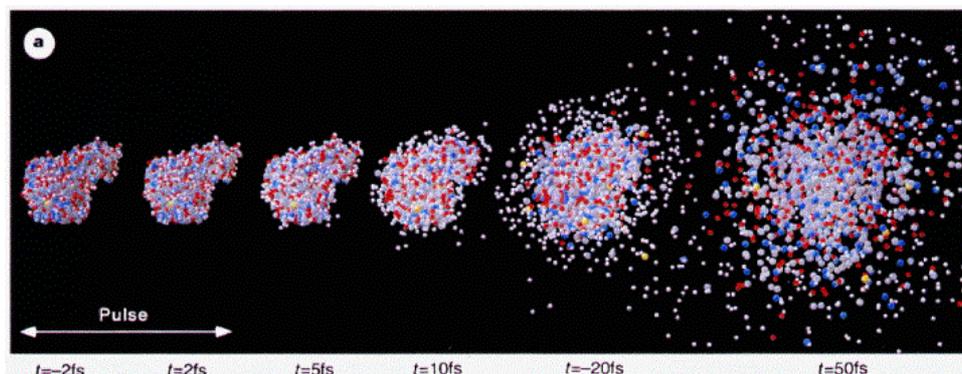


図 2.38: FEL からの X 線強度を想定したリゾチーム一分子の崩壊過程 [4]

若槻壮市 (KEK・PF)

参考文献

- [1] T. Shiba, T. Takatsu, T. Nogi, N. Matsugaki, M. Kawasaki, N. Igarashi, M. Suzuki, R. Kato, T. Earnest, K. Nakayama and S. Wakatsuki, *Nature*, 415 (2002) 937.
- [2] T. Nogi et al. *Nature Struct. Biol.* 9 (2002) 527.
- [3] J.Q. Miao, K.O. Hodgson and D. Sayre, *PNAS*, June 5, 2001, vol. 98, 6641・645.
- [4] R. Neutze et al. *Nature*, 406 (2000) 752.

2.4.4 X線小角散乱による生命科学

2.4.4.1 筋肉の構造研究

ERL から得られる放射光の特徴として筋肉研究に主として有用なものは、超平行極小ビームとサブピコ秒パルス性であろう。

(1) 単一筋原繊維の X 線回折実験

第3世代の放射光による筋収縮の構造研究は、太さ $100\ \mu\text{m}$ の単一筋繊維（単一筋細胞）による研究が主となっている。散乱能が散乱に寄与する試料の体積に比例すると計算すると全筋（厚さ $1\ \text{mm} \times$ 幅 $2\ \text{mm}$ ）のその約 $1/250$ になる。第3世代の放射光と云えども1本の単一筋繊維では強度の点では不十分で特定の強い反射の測定に限られていたり、二次元回折像を記録するのに数十本平行に並べて測定しているのが現状である。したがって輝度の高い極小ビームが利用できないかぎり1本の単一筋繊維による X 線回折実験の所期の目的を達することができない。また筋肉の第4世代的な放射光利用研究では細胞内の太さ約 $2\ \mu\text{m}$ の筋原繊維の X 線回折へ向かうことが期待される。筋原繊維は単結晶に相当する構造を持つから構造解析も単結晶解析的手法が適用される。もしそれが可能になると構造解析そのものが飛躍的に進展する。単一筋繊維に必要な輝度としては現在の PF の少なくとも3桁上の輝度が要求される。これは十分可能とされている。筋原繊維の場合にはまさにマイクロビームによるマイクロ X 線回折ということになり、PF の将来計画で検討されている高輝度マイクロビーム放射光による実験に相応しいかもしれない。しかし、試料の調製の問題から適正波長の選択等実験技術的に克服すべき問題があることと、radiation damage の問題が今以上に厳しくなる。

(2) 新しい X 線構造解析法の開発

少し PF 将来計画との関連から離れるかもしれないが、筋肉の構造研究の向かうべき方向性を考えてみる。

筋収縮の構造研究は、1990年代にアクチン、ミオシンのモーター蛋白質さらに今世紀に入りトロポニン、トロポミオシンの制御蛋白質やそれらのコンプレックスの結晶構造が出されつつあり、遺伝子工学、蛋白質工学の技術導入によって超分子システムとしての筋収縮研究もアトミックな分解能での解析に入っている。

筋肉内ではモーター蛋白質は自己集合してフィラメントを形成している。従来の筋肉の X 線解析は X 線回折の宿命でもあるが、フィラメント中の個々の分子の違いを無視した形の平均構造として取り扱うものであった。しかし、最近フィラメント中の個々の分子の構造の違いとか構造揺らぎの異方性が機能とより密接に関係していることに注目が集まってきている。そのような例を挙げてみる。筋細胞中の ATP が消費されると、ミオシンフィラメントから突き出ているミオシン頭部（ATP 分解酵素作用とアクチンとの結合能力を有する）はアクチンフィラメントの対称性の支配を受けてアクチンフィラメント上の特定部位に周期的に結合する。この結合構造形成のメカニズムの要因として、制御蛋白質トロポニンが結合している近傍のアクチン分子がヌクレオチドを失ったミオシン分子に対する親和性が高められているとする解釈がある。そうすると、トロポニン近傍のアクチン分子の状態つまり構造が他の位置にあるアクチン分子のものとは異なっている可能性がある。収縮中にはこの特異性がなくなり、ミオシンフィラメントの周期支配でミオシン頭部はアクチンと相互作用する。そのとき相互作用を直接受けているアクチンと受けていないアクチン分子の構造の違いはどうか？もう一つ最近の話題として、ATP の加水分解エネルギーを使ってアクチンフィラメントの上を一方向に滑るミオシン頭部（ミオシン V）は $36\ \text{nm}$ ごとのステップで跳躍走行することが *in vitro* 運動計測で見つけられた。この $36\ \text{nm}$ という距離はアクチ

ンフィラメントをアクチン分子の二重らせん構造とみたときの2本のらせんがクロスオーバーする周期(アクチン分子7個分の周期)に対応しているが、この間隔ごとにミオシン分子に対する“ホットスポット”なる場所がアクチンフィラメントに生み出されている可能性が指摘されている。これもホットスポットなる領域のアクチン分子の構造が他の箇所のものとは異なっていることを示唆している。さらには滑り運動の方向性や力発生に対するミオシン親和性に対する異方性ポテンシャルの形成は、ATPで活性化されたミオシンの相互作用によってフィラメント中のアクチンに誘発される構造的な違いの分布を反映している。

力発生中の筋肉では個々のミオシン分子は非同期的にアクチンとの相互作用をくり返しているとされている。両分子にかかる力もATP分解の化学反応ステップと共役して異なっている。このようなミオシン頭部の分子運動に関わる力学反応と化学反応と関連した構造変化の場所的違いをどのようにして捉えたらよいだろう。従来と違う single-molecule diffraction image analysis のような新しい構造解析が必要である。

(3) ミオシン頭部 ATP 加水分解反応中間体の構造解析

筋肉から取り出したミオシン頭部のATP加水分解反応のアナログを使ったX線溶液散乱の研究は、ミオシンがATPを結合し、分子内加水分解プロダクトのリン酸、ADPを放出する過程でミオシン頭部の尾部を逆方向に2度振る(～10 nmに及ぶ)ような大きな分子構造変化を行っていることを示唆してきたが、これも最近の結晶構造解析による分子内の局所的なアミノ酸レベルでの反応部位の微小変化が、周囲のドメインの結合構造を変えて最終的に分子全体のグローバルな構造変化に導いている。このような分子内の微小領域の構造変化のダイナミクスと分子のグローバルな構造変化の推移は各反応ステップの時定数の違い(マイクロ秒から秒)もあって今後の時分割測定に興味ある対象である。ATPの分解エネルギーによる分子の活性化と分子の揺らぎの活性化がどのように関係しているかの測定と解析は酵素反応一般と関係して興味もたれる。この点でも高輝度パルス性ビームの利用や非弾性散乱の応用が考えられる。将来的にはZim-Kamが1970年代に提案した希薄溶液系のX線散乱法でのsingle particle analysisが可能になることが夢であろう。それには超パルス性と放射光の強度としてさらに数桁必要になろう。

このように筋収縮の構造解析や酵素反応の溶液構造解析も平均構造の解析から局所構造解析ないしは個々の単分子的構造解析に興味に向かっていく。フィラメント中の個々の分子の揺らぎも含めて解析学的手法の開発が急務になっている。

若林克三(阪大)

2.4.4.2 タンパク質フォールディング

溶液中でのX線小角散乱は、タンパク質のフォールディングを測定するのに広く用いられている方法である。一般には、pH・温度・圧力・変性剤濃度などを変えた一定の条件下で測定を行い、溶液中での大きさ・外形などからそのタンパク質の立体構造がどのような状態であるかの情報を得、どのようにして立体構造が形成されているかについての知見を得ることができる。近年、このような静的な状態での測定だけでなく、ストップトフローあるいはコンティニューアスフローと組み合わせた時分割測定を行うことで、ミリ秒あるいはマイクロ秒単位でのより詳細な情報が得られるようになってきている。このような測定のためにはよりフラックスの高い光源が必要であり、測定を現実的なものにするためにはサンプルの消費量を少なくする必要があり、より高輝度の光源が必要である。

タンパク質のフォールディングが生理機能に重要であることは改めて述べる必要もないが、近

年、それらと病気との関連が改めてクローズアップされてきている。アルツハイマー病はアミロイドタンパク質の異常な凝集によるものであり、BSEはプリオンタンパク質の立体構造が変化したことによるものである。現在はまだ実用化されていないが、組織片について *in situ* の小角散乱測定を行うことで、このようなフォールディングに起因する病気の発症前診断が可能になる可能性がある。また、フォーカスを絞ったビームを用いることで細胞内の特定の領域について小角散乱測定を行うことができるようになれば、病気（がん化）や環境応答によって生じる細胞の変化を今までと全く異なる側面から測定することができるようになる。この新技術により基礎生物学において新しい知見が得られるとともに、予防医学や発症前診断といった医学的側面への応用も期待できる。このような研究のためには、照射面積を小さくしても十分なフラックスが得られるような輝度の高い光源が必要とされるであろう。

加藤龍一（KEK・PF）

2.4.4.3 マルチドメインタンパク質とターゲットタンパク質の相互作用

タンパク質の多くは複数のドメインから構成されており、それぞれのドメインの機能の組み合わせで最終的な生理機能を発現していると考えられる。例えば、変異が起こると発ガンが誘発される DNA 修復遺伝子 MutS タンパク質は、DNA 結合能がヌクレオチドによって変化することが生化学的解析によって明らかにされ、DNA 結合部位とヌクレオチド結合部位が空間的に隔たっていることが X 線結晶構造解析によって示され、ヌクレオチドの結合により溶液中でのタンパク質の構造が大きく変化することが X 線小角散乱によって示された。また、細胞内のタンパク質輸送で重要な働きをする GGA タンパク質は複数のドメインでそれぞれ異なるタンパク質と相互作用することでその機能を発現させるが、その働きを理解するためには、ターゲットタンパク質と相互作用したときに溶液中の状態で全体としてどのような構造変化が起こるかを知らなければならない。シグナル伝達に関わるタンパク質群については、その作用機構を理解するためには本質的に同じ状況である。溶液中での X 線小角散乱は、この問題を解決する最も重要な手法のひとつである。NMR を用いても似た情報が得られるが、サンプルの同位体ラベルが必要である点・分子量の上限に制限がある点・測定や解析に時間がかかる点などで、X 線小角散乱の方が優れている。この利点をさらに生かすためには、測定ステーションの数を増やしていつでもすぐに測定できる環境を整えることが急務である。また、今まで以上に短時間で測定できるハイフラックス光源や高感度検出器の設置や解析ソフトの開発なども重要であろう。

また、より広角側の散乱を測定できるステーションが整備されれば、現在よりもより高分解能な分子の形状を測定することができる。溶液中で自由にエフェクター分子との相互作用による形状変化を測定できるという点で、小角散乱は結晶構造解析では得られない情報を簡便に得ることができる。タンパク質の機能発現がその構造変化とは切り離しては考えられないことが明らかになってきた現在、X 線結晶構造解析による情報を補完するものとして、小角散乱実験の意義はますます重要性を増すであろう。その際、小角側の情報とより広角側の情報の両方があればそれだけより詳細な情報が得られるので、将来的にはそのような測定ステーションを整備してゆくのが望ましい。

加藤龍一（KEK・PF）