



JAEA-Review 2017-024

J-PARC 17-03

DOI:10.11484/jaea-review-2017-024

次世代中性子生物学  
J-PARC ワークショップ  
「次世代中性子生物学」の報告

2017年3月22日～23日、いばらき量子ビーム研究センター

Neutron Biology for Next Generation

Report from J-PARC Workshop “Neutron Biology for Next Generation”

March 22nd - 23rd, 2017, Ibaraki Quantum Beam Research Center

(編) 杉山 正明 中川 洋 井上 倫太郎 川北 至信

(Eds.) Masaaki SUGIYAMA, Hiroshi NAKAGAWA, Rintaro INOUE and Yukinobu KAWAKITA

原子力科学研究部門

J-PARC センター

物質・生命科学ディビジョン

Materials and Life Science Division

J-PARC Center

Sector of Nuclear Science Research

December 2017

Japan Atomic Energy Agency

日本原子力研究開発機構

JAEA-Review

本レポートは国立研究開発法人日本原子力研究開発機構が不定期に発行する成果報告書です。  
本レポートの入手並びに著作権利用に関するお問い合わせは、下記あてにお問い合わせ下さい。  
なお、本レポートの全文は日本原子力研究開発機構ホームページ (<http://www.jaea.go.jp>)  
より発信されています。

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構 研究連携成果展開部 研究成果管理課  
〒319-1195 茨城県那珂郡東海村大字白方2番地4  
電話 029-282-6387, Fax 029-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

This report is issued irregularly by Japan Atomic Energy Agency.  
Inquiries about availability and/or copyright of this report should be addressed to  
Institutional Repository Section,  
Intellectual Resources Management and R&D Collaboration Department,  
Japan Atomic Energy Agency.  
2-4 Shirakata, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 319-1195 Japan  
Tel +81-29-282-6387, Fax +81-29-282-5920, E-mail:ird-support@jaea.go.jp

© Japan Atomic Energy Agency, 2017

# Neutron Biology for Next Generation

“What did we do up to now?”

“What can we do now?”

“What will we do in the future?”

AND

“What should we do for next generation?”

March 22nd - 23rd, 2017, Ibaraki Quantum Beam Research Center

(Eds.) Masaaki Sugiyama\*<sup>1</sup>, Hiroshi Nakagawa<sup>+1</sup>,  
Rintaro Inoue\*<sup>1</sup>, Yukinobu Kawakita

Materials and Life Science Division  
J-PARC Center

---

<sup>+1</sup> Materials Sciences Research Center, Sector of Nuclear Science Research

<sup>\*1</sup> Research Reactor Institute, Kyoto University

This is a blank page.



次世代中性子生物学  
“What did we do up to now?”  
“What can we do now?”  
“What will we do in the future?”  
AND  
“What should we do for next generation?”

**J-PARC ワークショップ「次世代中性子生物学」の報告**

2017年3月22日～23日、いばらき量子ビーム研究センター

日本原子力研究開発機構 原子力科学研究部門 J-PARC センター 物質・生命科学ディビジョン

(編) 杉山 正明\*1, 中川 洋+1, 井上 倫太郎\*1, 川北 至信

(2017年9月29日受理)

現在、我が国では J-PARC・JRR-3 等の高強度高品質の中性子源が整備され、中性子線を用いた生命科学研究の推進が強く望まれている。そこで、わが国の中性子生物学の発展に寄与することを目指して 2017 年 3 月 22 日～23 日国際 Workshop 「Neutron Biology for Next Generation」が J-PARC ワークショップとして開催された。この Workshop では、日本国内の中性子分光器の装置研究者及び中性子散乱を精力的に利用している国内外の生命科学者が集まり、上記テーマについて装置・実験手法、最新の研究成果およびその動向について多方面より議論した。本レポートはオーガナイザーによる Workshop の報告である。

---

J-PARC センター 〒319-1195 茨城県那珂郡東海村大字白方 2 番地 4

+1 原子力科学研究部門 物質科学研究センター

\*1 京都大学原子炉実験所

**Neutron Biology for Next Generation**

“What did we do up to now?”

“What can we do now?”

“What will we do in the future?”

AND

“What should we do for next generation?”

**Report from J-PARC Workshop “Neutron Biology for Next Generation”**

March 22nd - 23rd, 2017, Ibaraki Quantum Beam Research Center

(Eds.) Masaaki SUGIYAMA\*<sup>1</sup>, Hiroshi NAKAGAWA<sup>1</sup>,  
Rintaro INOUE\*<sup>1</sup> and Yukinobu KAWAKITA

Materials and Life Science Division, J-PARC Center  
Sector of Nuclear Science Research  
Japan Atomic Energy Agency  
Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken

(Received September 29, 2017)

Now-a-days, promotion of life science by utilizing neutron (neutron biology) is highly demanded in our country, following installation and improvement of high quality and intensity neutron sources at J-PARC and JRR-3. Aiming at accelerating development of neutrons biology in our country, an international workshop “Neutron Biology for Next Generation” was held as a J-PARC Workshop at Ibaraki Quantum Beam Research Center from 22 March to 23 March in 2017. In the workshop, latest instruments, new-fashioned methodologies, recent scientific results and future perspectives were extensively discussed by domestic neutron instrumental scientists and domestic/foreign neutron biologists. This is a report of the workshop summarized by organizers.

Keywords: Neutron, Biology, J-PARC, Protein, Dynamics, SANS, Crystallography

---

<sup>+1</sup> Materials Sciences Research Center, Sector of Nuclear Science Research

\*<sup>1</sup> Research Reactor Institute, Kyoto University

目次

1. はじめに	1
2. 日本における中性子生物学に利用可能な分光器の現状	3
2.1. TAIKAN (BL15:SANS)	3
2.2. iBIX (BL03:Single crystal diffractometer for protein)	5
2.3. DNA (BL02 : TOF-Back scattering spectrometer)	7
2.4. VIN-ROSE (BL06)	10
3. 日本における中性子生物学の最近の成果	11
3.1. 機能性タンパク質におけるダイナミクス	11
3.2. SANS 測定によるタンパク質の運動性とダイナミクス	11
3.3. タンパク質における生物物理学	13
4. 欧州における中性子生物学 I (ダイナミクス)	15
4.1. 混雑条件下におけるタンパク質ダイナミクス	15
4.2. 球状タンパク質のドメインダイナミクス	16
4.3. 天然変性タンパク質のダイナミクス	17
4.4. 免疫グロブリンのダイナミクス	18
4.5. 中性子背面散乱・飛行時間法によるタンパク質におけるファーストダイナミクス	19
4.6. まとめ	19
5. 欧州における中性子生物学 II (溶液散乱)	21
5.1. 溶液散乱の発展 1 –初期から 2000 年まで	21
5.2. 溶液散乱の発展 2 –2000 年から現在	22
5.3. 将来展望	27
6. 討論会	30
7. 結言：将来展望をふまえて	32
謝辞	34
付録	35
1. 開催案内	35
2. 実行委員会	35
3. 参加者数	35
4. プログラム	36
5. 討論会資料	38

CONTENTS

1. Introduction	1
2. Japanese Instruments and Science for Neutron Biology	3
2.1. TAIKAN (BL15:SANS)	3
2.2. iBIX (BL03:Single crystal diffractometer for protein)	5
2.3. DNA (BL02 : TOF-Back scattering spectrometer)	7
2.4. VIN-ROSE (BL06)	10
3. Neutron Biology in Japan	11
3.1. Functional Protein Dynamics	11
3.2. Protein Kinetics and Dynamics Measured by SANS	11
3.3. Protein Physics and Biology	13
4. Neutron Biology in Europe I (Dynamics)	15
4.1. Dynamics of Protein Under Crowding Environment	15
4.2. Domain Dynamics of Globular Protein	16
4.3. Dynamics of Intrinsically Disordered Protein (IDP)	17
4.4. Dynamics of Immunoglobulin	18
4.5. Fast Dynamics of Protein as Revealed by BS/TOF	19
4.6. Summary	19
5. Neutron Biology in Europe II (Solution Scattering)	21
5.1. Historical Review 1 –dawn to 2000	21
5.2. Historical Review 2 –2000 to Present	22
5.3. Future Outlook	27
6. Round Table Discussion	30
7. Remarks for Future Outlook	32
Acknowledgements	34
Appendix	35
1. Preface	35
2. Organizers	35
3. Participants	35
4. Program	36
5. Materials in Round-Table Discussion	38

## 1. Introduction

2017年3月22日—23日に国際 Workshop「Neutron Biology for Next Generation」を多くの方々のご協力を得ていばらき量子ビーム研究センターにて開催いたしました。このワークショップの企画意図について簡単に紹介させて頂きたいと思います。現在、日本国内には J-PARC/MLF・JRR-3 と言った高強度の中性子源が存在することもあり、中性子科学関係者からは施設の将来計画などにおいて中性子線を用いた生命科学研究の推進の重要性や必要が語られています。また、構造生物学をはじめとする生命科学研究で利用される様々な計測・分析手法の中で、中性子のユニークな量子ビーム特性に対する期待も大きいとも言えます。しかしながら、日本国内において「中性子を用いた生物学」（以下「中性子生物学」）を主体とした研究者の数は決して多くはありません。そのため、J-PARC/MLF が軌道に乗り中性子研究のツールが充実しそれを利用した研究への期待が高まる一方、生命科学において中性子を用いて「何が出来て」「何を測定し」「何が足りないのか」といった基本事項に対する共通認識が日本の中性子科学コミュニティに熟成されているとは言えない状況にあると思われまます。そこで、この時期を捉えて我が国における中性子生物学を加速度的に発展させるために、中性子生物学に利用が期待される日本国内の分光器の装置研究者及び中生子に興味を持つ生命科学者が一同に介して、科学的成果や各種問題点に対する議論を通して共通認識を醸成させ、将来の礎にすべきであると考え、このワークショップを企画しました。

ワークショップを開催するにあたり議論の端緒として以下に問題点を掲示しました。

- ・世界の中生子生物研究では何が行われ、どのような成果が得られているのだろうか？また、今後どのような方向への研究展開が考えられているのか？
- ・国内の中生子分光器はどのような生物学研究に利用可能であるのか？また、これまでどのような成果が得られているのか？
- ・各中生子分光器の将来計画は中生子生物学に対してどのように貢献できるのか？
- ・そして、**その将来の可能性のために、我々が現在なすべきことは何であるのか？**

上記の点を踏まえワークショップは日本側からの参加者に加え、中生子生物学が盛んである欧州から新進気鋭の中生子生物学者である Ralf Biehl 博士（Forschungszentrum Jülich (FZJ)）と Frank Gabel 博士（Institut de Biologie Structurale (IBS)）を迎えて、4部構成としました。まず「Japanese Instruments and Science for Neutron Biology」として、日本側の装置科学者から J-PARC/MLF における生物研究に用いられる分光器とそこで展開されているサイエンスの現状と将来について紹介して頂きました。次に「Neutron Biology in Japan」として、3名の日本の若手研究者に最新の中生子生物研究の成果と今後の方向について語って頂きました。その後、世界の現状・今後の方向性を Biehl 博士と Gabel 博士に紹介して頂きました。Biehl 博士からは「Neutron Biology in Europe I」として、主に中生子を用いたタンパク質におけるダイナミクス研究の最前線を紹介して頂き、Gabel 博士からは「Neutron Biology in Europe II」として、中生子ならではの重水素化を用いたタンパク質の溶液構造研究を中心として、その歴史から最新の話題、さらに中生子も含めた種々の手法を統合した Integrative Structural Biology などの将来の展望についても語って頂きました。そして最後に参加者全員で「Round-table discussion」として、

“What did we do up to now?”

“What can we do now?”

“What will we do in the future?”

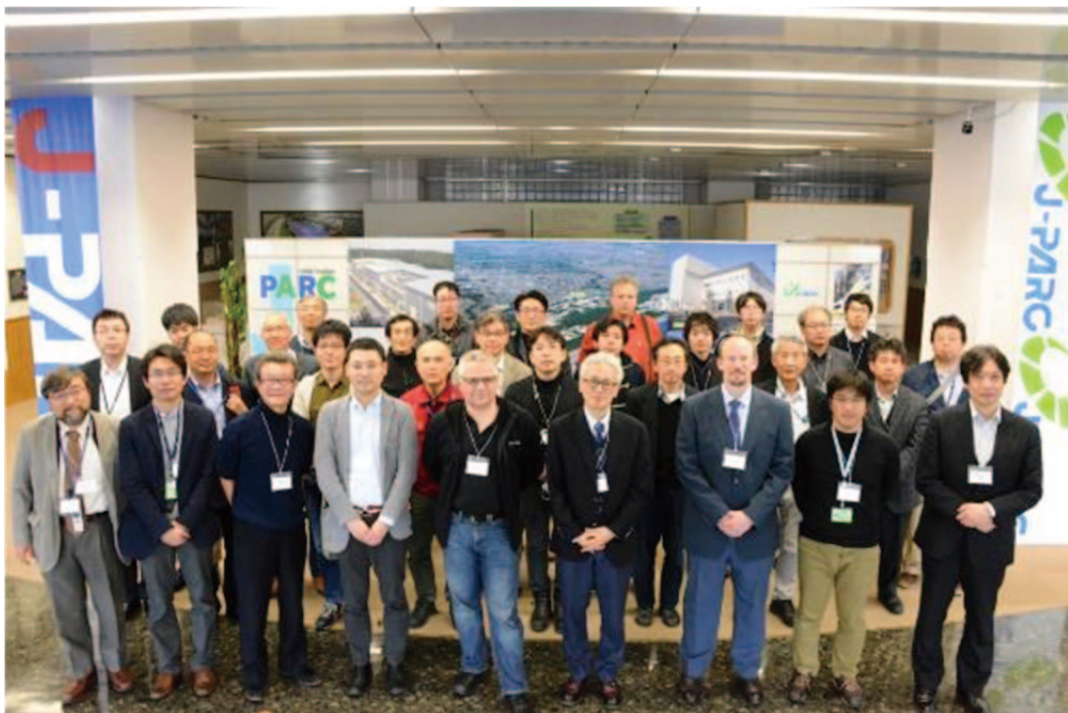
AND

“What should we do for next generation?”

をテーマとして、各講演内容を踏まえた上で中性子生物学の現状・将来、そして今なすべきことの議論を深め、共通認識の醸成を行いました。

研究会は上記の通り多くの内容を含んだものであり、各論についてはそれぞれの発表の質疑応答で活発に議論が行われました。そして「Round-table discussion」においては、個別の議論を踏まえた包括的な議論を通じて、上記の4つのテーマにアプローチしました。この「Round-table discussion」にも多くの出席者が参加し、それぞれの意見を述べ、活発な議論が行われました。個別の研究発表での議論では浮かび上がらないような問題点や、将来展望がより明確に提示されたと考えています。本レポートは、オーガナイザー（杉山、井上、中川）による各セッションのまとめであると同時に将来・現状に対する提言を目指したものです。そのため各講演の紹介は講演スライドの単なる集合体とせず、オーガナイザー自身の視点によるコメントを加えた上で監修を行っております。もし、独断的な視点と思われる点があればそれが監修者の責任であり、機会を捉えてオーガナイザーに指摘して頂きたいと思っております。最後に、このレポートが我が国における中性子生物学を発展の一助になれば幸いです。

開催責任者 杉山正明





## 2. Japanese Instruments and Science for Neutron Biology

本セッションは中性子生物学を実験的に遂行する上で、主軸となると考えられる J-PARC/MLF の分光器 4 台の現状、およびそこで展開されているサイエンス・将来像などに関する装置グループによる講演である。ここでは、オーガナイザーが提示した項目に対する回答を基に装置の現状等をまとめた。本来なら、JRR-3 に設置されている分光器も加えるべきであるが、東日本大震災後原子炉が再稼働していない事を考慮して今回は講演依頼を行わなかった。

### 2.1 TAIKAN (BL15:SANS) – presented by Dr. Shin-ichi Takata (Japan Atomic Energy Agency (JAEA))

- 特徴：小角から高角までの広い  $Q$ -range を同時測定可能な中性子小・中角散乱装置。
- スペック： $Q$ -range = 0.008- 17 Å<sup>-1</sup> (1<sup>st</sup> フレーム: 波長 0.7-7.8 Å) (表 2.1)
- 現状：リゾチーム ( $M_w=14300$  Da) の測定結果 (図 2.1, 2.2)

小角領域の測定 (=Guinier 解析) における必要濃度の点では、リゾチーム程度の小型タンパク質でも 1 mg/mL での測定が可能 (150kW で 2-4 時間)。一方、中高角領域でのダイナミックレンジは 10<sup>-3</sup> cm<sup>-1</sup> である、この領域まで用いた生体高分子の 3 次元立体構造 Modeling を行うためには少なくとも 5 mg/mL 程度以上の濃度が必要と思われる。より短時間での高統計精度を達成するためには出力 1 MW 運転の早期実現が望まれる。

- 装置を代表する成果：

標準試料 (Glassy Carbon、Silver behenate) の測定により、原子炉型 SANS に比べ高分解能のデータが小角から高角までの広い  $Q$ -range (0.008-17 Å<sup>-1</sup>) を同時測定可能であることを実証している。(図 2.3, 2.4)

- 今後の展開：

超小角領域検出器の導入や 2nd frame の利用などによる  $Q$ -range の小角側の延長を計画している。既に、いくつかの試験測定を開始しており、以下の  $Q$ -range の小角側の延長が可能なが確認された。

- ① 超小角領域検出器 (RPMT) 使用により
  - $Q=0.0007$  Å<sup>-1</sup> までの小角散乱測定が可能。
- ② 2nd frame (波長：8.2-14.8 Å) 使用により
  - $Q=0.0036$  Å<sup>-1</sup> までの小角散乱測定が可能。

- 問題点・検討事項：

現状では 150kW という線源強度によるビーム強度制限が大きい。1 MW に到達して本来の性能が発揮できると考えられる。その際に、生物試料の測定において TAIKAN の特長である広い  $Q$ -range を網羅したデータをいかに活用するかが重要になると考えられる。したがって、早期に実際の活用例を示すことが大切ではないか？ (高角度データまで用いることで生物科学においてどのような知見が得られるのか？など) また、標準試料測定として、リゾチーム以外の大型タンパク質の測定も進めていく予定である。

Results

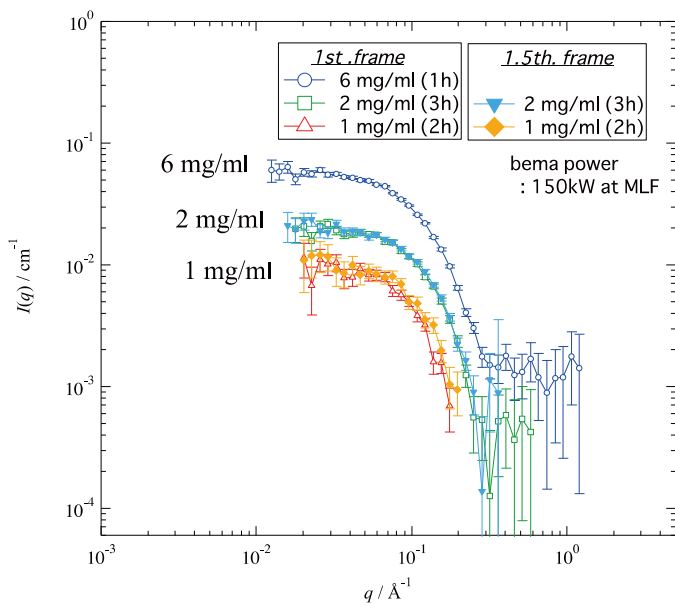


図 2.1 リンチウムの SANS プロファイル

Guinier plot -  $\ln(I(q))$  vs  $q^2$  -

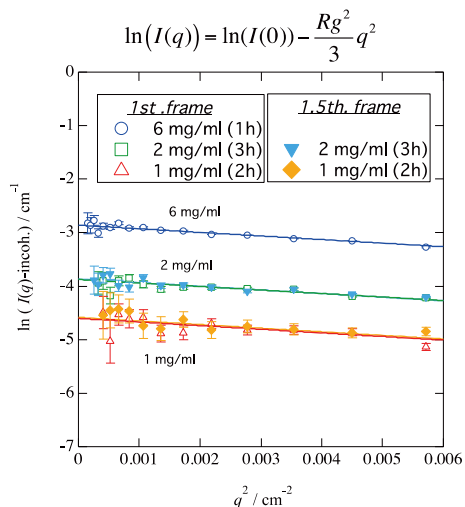


図 2.2 リンチウムのギニエプロット

表 2.1 TAIKAN の装置スペック

	Measurement time [h]	Conc. [mg/ml]	Rg [Å]	I(0) [cm <sup>-1</sup> ]	Mw [g]
1mg/ml (1 <sup>st</sup> frame)	2	1.18	14.27	0.0100	13034
(1.5 <sup>th</sup> frame)	2		14.21	0.0102	13289
2mg/ml (1 <sup>st</sup> frame)	3	2.24	13.99	0.0207	14185
(1.5 <sup>th</sup> frame)	3		14.02	0.0209	14287
6mg/ml (1 <sup>st</sup> frame)	1	5.87	14.19	0.0572	14936

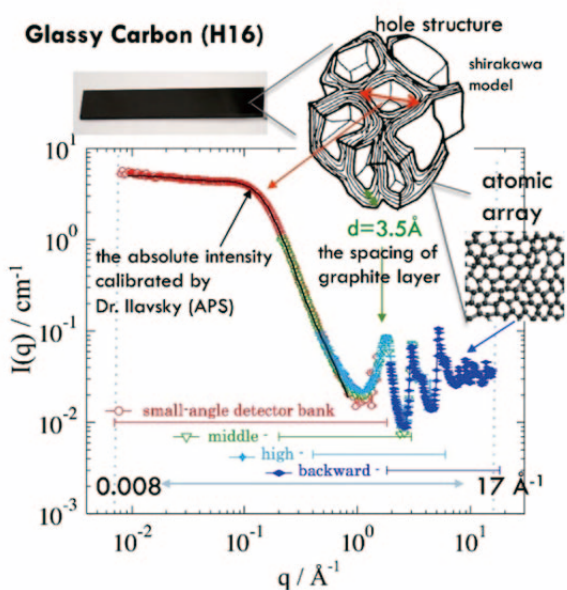


図 2.3 Glassy Carbon の SANS プロファイル

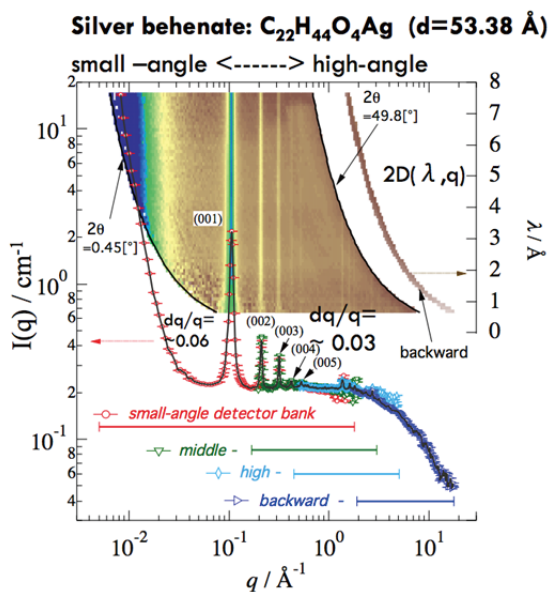


図 2.4 Silver behenate の SANS プロファイル



2.2 iBIX (BL03:Single crystal diffractometer for protein) – presented by Dr. Taro Tamada (National Institute for Quantum and Radiological Science and Technology (QST))

- 特徴：国内唯一のパルス中性子生物用単結晶回折装置（図 2.5）
- スペック：3 軸：～135 Å（格子定数）
- 現状：必要結晶サイズ (>1mm<sup>3</sup>)、予測測定時間（20 日間@150kW）
- 装置を代表する成果：

セルラーゼ PcCel45A の中性子構造解析 (Sci. Adv., 2015)

中性子回折によって、活性残基の 1 つが通常とは異なるアスパラギン（イミド型）として存在することを明らかにした。（図 2.6）

- 今後の展開：
  - より大きな格子定数に対応した分光器の設置（図 2.5）
- 問題点・検討事項：

1 MW まで強度に到達しても測定時間や要求結晶サイズの点では放射光 X 線と比較すると困難な手法であると言える。したがって、「中性子結晶構造解析」を適用すべき適切な課題（サンプル）の選定が重要である。試料の重水素化は必要サイズの軽減および測定時間の短縮のために非常に重要な技術である。その一方で、作製の際のコストや多様な発現系への適応等の問題もあるため、関係者間で議論を進め適切な必要度を明確にする必要がある。

Unit cell size and resolution covered with new diffractometer

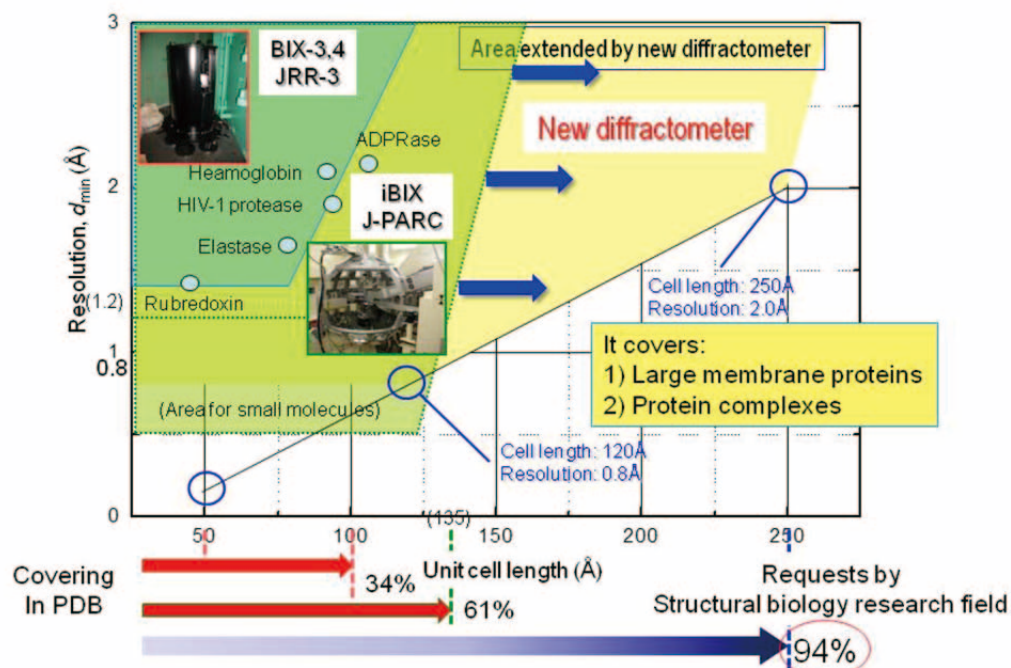


図 2.5 日本の中性子結晶構造解析装置のスペック

## Recent topic from iBIX

### Enzymatic reaction mechanism study of Cellulase PcCel45A

Prof. K. Igarashi (Univ. Tokyo)

Cellulase:

Enzyme decompose cellulose, the most abundant biomass on the earth

A. Nakamura et. al, *Science Advances*, 21 Aug, 2015:  
Vol. 1, no. 7, e1500263

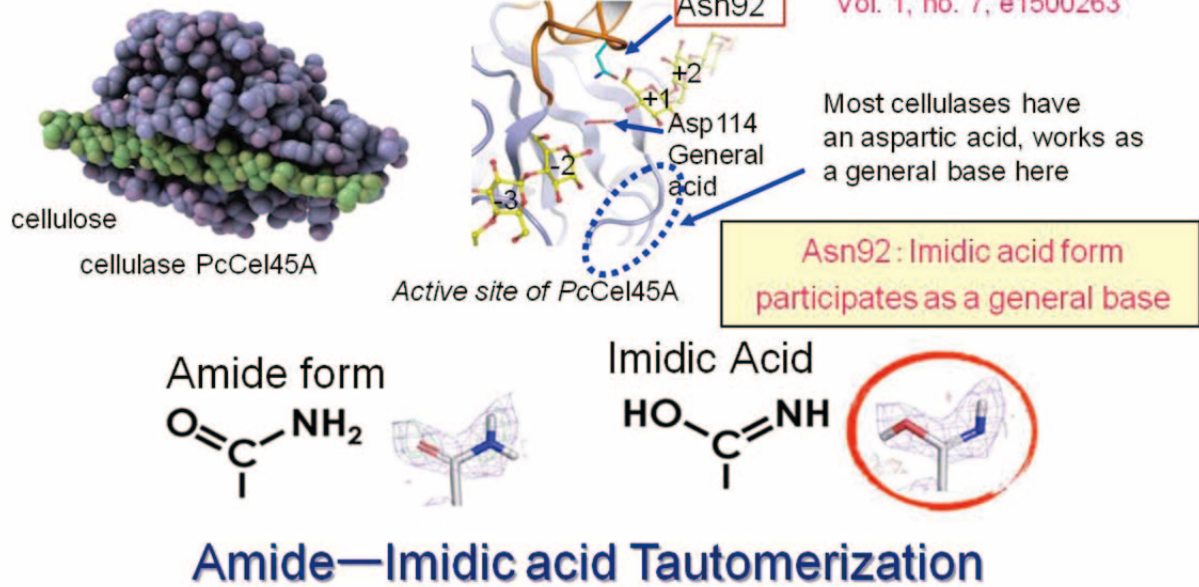


図 2.6 セルラーゼ PcCel45A の中性子構造解析

### 2.3 DNA (BL02 : TOF-Back scattering spectrometer) – presented by Dr. Taiki Tominaga (Comprehensive Research Organization for Science and Society (CROSS))

➤ 特徴：(図 2.7, 表 2.2)

DNAはMLFにおける生命科学研究を行う目的で作られた背面反射型TOF分光器である。タンパク質溶液試料は一般に低濃度であるため、長時間測定が必要である。この点においてDNAは、結合型モデレータを用いた大強度の確保と高品質Si(111)ウエハ結晶アナライザ・パルス整形チョッパーを中心とする光学系とバックグラウンド対策により、広い $Q$ - $E$ 空間において、適切なエネルギー分解能( $\Delta E < 3.5 \mu\text{eV}$ )と適切な $\Delta Q$ のデータが得られる世界に類の無い装置である。

具体的には、入射ビームのパルス幅を整形する高速ディスクチョッパーのスリット幅と試料サイズの調整により、 $\Delta E$ の選択が可能( $\Delta E = 1.6, 2.4, 3.5 [\mu\text{eV}]$ )で、入射ビームバンドを走査することにより $-400 [\mu\text{eV}] < E < 600 [\mu\text{eV}]$ の高分解能かつ広帯域のエネルギー範囲が測定可能である。この画期的な手法は同世代のBASIS(SNS)にない特色で、ESSにおいて採用される計画である。また、S/Nが $10^5$ であることも低濃度試料など長時間測定を必要とする試料系の生物系実験に大きなアドバンテージである。(参考文献：K. Shibata et al. JPS Conf. Proc. 8 36022 (2015))

➤ スペック：

- ① 試料位置におけるビームサイズ：約  $20 \times 30 \text{ mm}$  (フラットトップのサイズ)
- ② シリンダー形状のH系の試料ではサンプル厚さ  $0.2\text{mm}$  程度
- ③ その他の詳細は、上記文献を参照のこと。

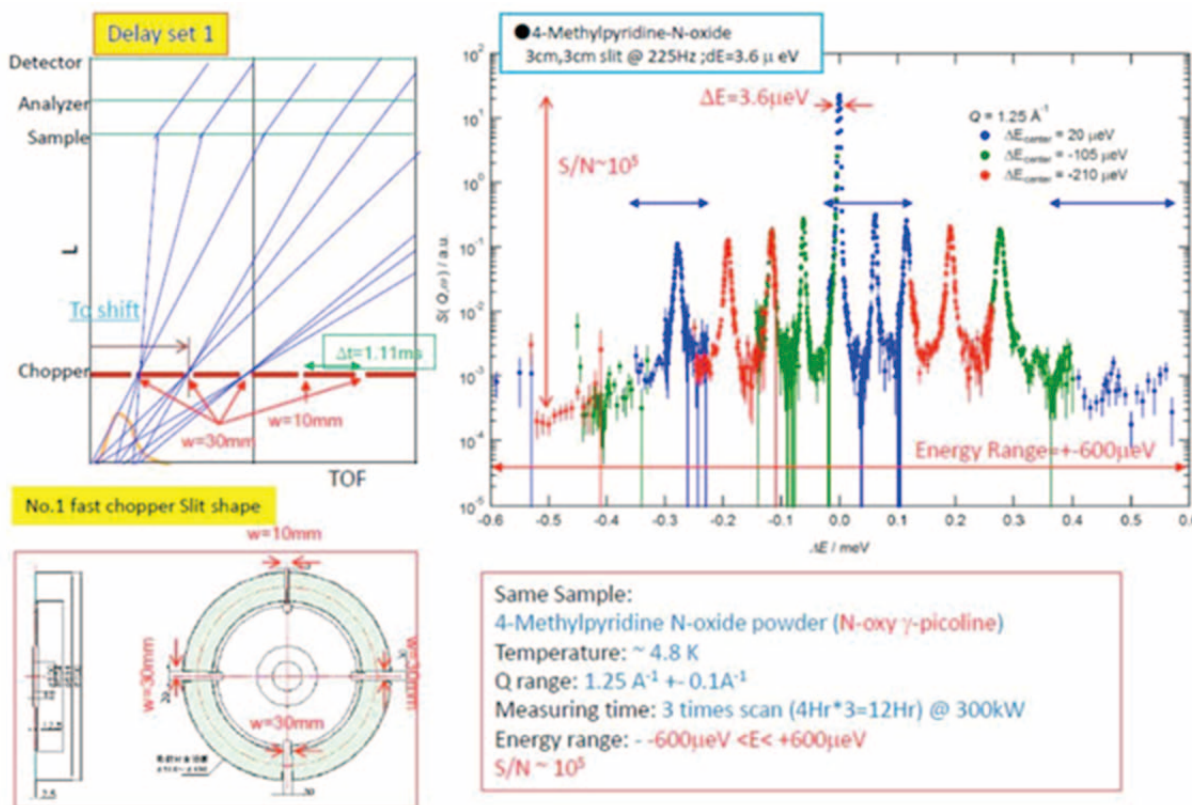
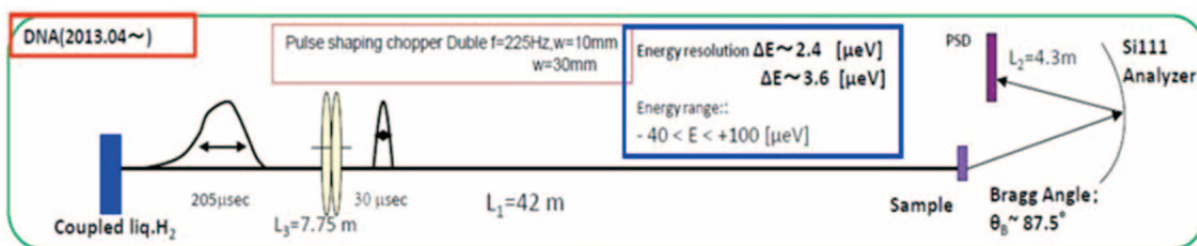
➤ 現状：

- ① Si(111)の実験が可能
- ② アルミ二重円筒セル(利用可能なサンプル厚： $0.2 \sim 2.0\text{mm}$ )、二重円筒ガラスセルを利用可(サンプル厚は $0.22\text{mm}$  或いは $0.47\text{mm}$ )
- ③ In situ湿度雰囲気制御システムを利用可(室温のみ)
- ④ 回折検出器を用いたQENS試料の構造 $S(Q)$ のモニター

➤ 装置を代表する成果：

- ① “Dynamical Behavior of Human  $\alpha$ -Synuclein Studied by Quasielastic Neutron Scattering”, S. Fujiwara, K. Araki, T. Matsuo, H. Yagi, T. Yamada, K. Shibata, H. Mochizuki, *PLoS ONE* 11(4) e0151447 (2016). DOI: 10.1371/journal.pone.0151447  
9.5 mg/mLにおけるタンパク溶液の準弾性散乱(QENS)測定を実現(Section 3.1.を参照)
- ② “Internal Dynamics of a Protein That Forms the Amyloid Fibrils Observed by Neutron Scattering”, S. Fujiwara, T. Yamada, T. Matsuo, N. Takahashi, K. Kamazawa, Y. Kawakita and K. Shibata, *J.Phys.Soc.Jpn.*, 82 SA019 (2013). DOI: 10.7566/jpsjs.82sa.sa019

- 今後の展開：
  - ① Si (311)を広い散乱角にインストールすることにより測定可能な  $Q$  レンジを広げる
  - ② 室温圧力下 (3000 atm) における実験システムの完成
  - ③ 回折検出器を利用した long-d 測定
  - ④ V 箔入射ビームモニター導入による入射ビームスペクトルの信頼性向上
- 問題点・検討事項：
  - ① データの信頼性向上
  - ② 得られたデータのより新規的な解析法の開発
  - ③ BL14, BL06 との連携 ( $S(Q, \omega)$  から  $I(Q, t)$  にフーリエ変換することで一つの分光器では達成できない広い  $Q$ - $t$  空間をカバーする)



Measurements of the tunnel spectrum for 4-Methylpyridine N-oxide powder with  $\Delta E \sim 3.6 \mu\text{eV}$  on BL02 by multi incident energy band measurements on DNA.

図 2.7 DNA 装置 (上) 構成概略 (下) 4-Methylpyridine N-oxide powder の測定例



表 2.2 DNA 装置のスペック

Items	Specification
Neutron source (NS)	Coupled Liquid H <sub>2</sub> Moderator
L <sub>1</sub> (source-sample)	42 [m]
L <sub>2</sub> (sample-analyzer)	~2.3 [m]
L <sub>3</sub> (analyzer-detector)	~2.0 [m]
Pulse sharpening chopper(PS-chopper)	Max speed: 300Hz at ~7.75m from NS (Present Max speed: 225Hz by 4 slits on one disc)
Crystal Analyzer	
Crystal and reflection index	Si111 Si311 in test with one analyzer unit
Bragg angle of analyzers	~87.5 [deg.]
Energy resolution	~2.4 [μeV]: Si111 with 10mm Slit @225Hz ~3.6 [μeV]: Si111 with 30mm Slit @225Hz ~14 [μeV]: Si111 without PS-chopper ~12 [μeV]: Si311 with 10mm Slit @225Hz in test.
Momentum range	0.07 < Q < 1.86 [Å <sup>-1</sup> ]: Si(111) 0.60 < Q < 3.80 [Å <sup>-1</sup> ]: Si(311) in future plan
Scan energy range:	Si111 -40 < E/μeV < 100: Single pulse scan around E <sub>f</sub> -500 < E/μeV < 1500: Without PS-chopper in second frame. Si311 -150 < E/μeV < 300: Single pulse scan around E <sub>f</sub>

(the specifications at the end of June 2014)

2.4 VIN-ROSE (BL06) – presented by Dr. Hitoshi Endo (High Energy Accelerator Research Organization (KEK))

- 特徴：MIEZE と NRSE という 2 つの NSE 分光器の Complex
- スペック：表 2.3 および図 2.8 参照。
- 現状
  - MIEZE：コミッショニング中（2017B に共用開始予定）
  - NRSE：位相補正用 2 次元楕円体ミラーを開発中
- 特筆すべき成果：運用前ではあるが、すでに世界に先駆けて TOF-MIEZE の検証実験を行っている。
- 今後の展開：2017B に MIEZE 共用開始。NRSE は 2018B 以降に共用開始予定。
- 問題点・検討事項：

「生物試料測定に対してどの程度の feasibility があるか？」または「高い feasibility のためにはどのような高度化が必要か？」との疑問点に対しては以下の点が主張できる。

- ① NRSE において、Focusing ビームを実験に用いるため、ビームサイズは直径 1cm 以下になるので、試料の量を節約できる。
- ② Fourier Time (FT) は、現状で最長 100 ns 程度の実現を目指す。加速器のパワーが 1MW 運転に達成すると Third Frame を使用することで波長を伸ばし、最大 FT を長くすることが可能となる。

表 2.3 VIN-ROSE 装置のスペック

Spectrometer	Wavelength	Q range [ $\text{\AA}^{-1}$ ]	Fourier Time
MIEZE	$3 < \lambda < 13$ [ $\text{\AA}$ ]	$0.2 < Q < 3.5$	$1$ [ps] < $t$ < $2$ [ns]
NRSE	$5 < \lambda < 20$ [ $\text{\AA}$ ]	$0.02 < Q < 0.65$	$0.1$ [ns] < $t$ < $0.1$ [ $\mu$ s]

Dynamic Range of VIN ROSE

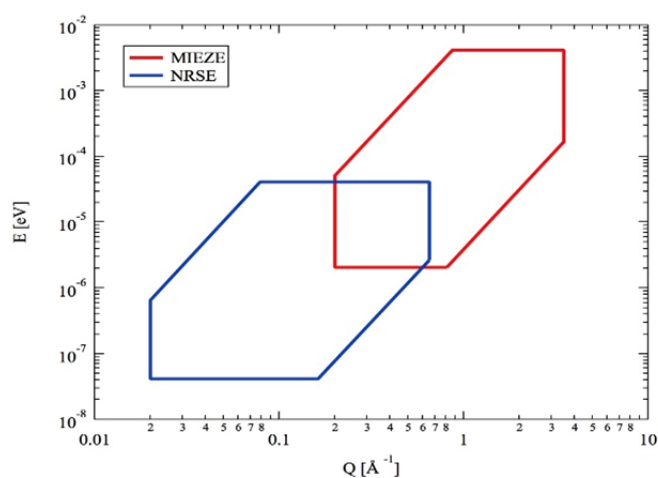


図 2.8 VIN-ROSE がカバーする ( $Q$ ,  $\omega$ ) 範囲

### 3. Neutron Biology in Japan

このセッションでは、日本側を代表して現在の中性子を用いて生物研究を積極的に推進している3名の若手研究者に講演を行った。

#### 3.1 Functional Protein Dynamics – presented by Dr. Tatsuhito Matsuo (National Institute for Quantum and Radiological Science and Technology (QST))

最初の QST の松尾博士の講演では、F アクチンとミオシン S1 の水和水のダイナミクス及び $\alpha$ シヌクレイン繊維のダイナミクスについて中性子準弾性散乱 (QENS) で調べた研究の講演であった。いずれも生命現象と密接に関わるタンパク質をターゲットに選んでおり本研究会にふさわしい内容の発表であった。

繊維状蛋白質である F-アクチンは、アクチン蛋白質が会合したもので、これがミオシンと相互作用することで筋収縮などが起こる。講演では準弾性散乱解析から求められる水和水分子の回転相関時間は、ミオシン S1 よりも F アクチンの方が小さいことが示され、F アクチンの水和水はバルク水程度の運動性を持つと結論付けられている。アクチンフィラメントの周りの水和水ダイナミクスが通常の水和水と比べ動きやすいことは、誘電緩和法による回転緩和でも示されているが中性子では時空間軸で特徴付けられる。筋収縮と水和水の関係性について、中性子による更なる解析が期待される内容である。

$\alpha$ シヌクレインの研究では、中性子準弾性散乱から重心拡散の寄与を差し引き、蛋白質の内部運動の解析からアミロイド繊維状態になると揺らぎが大きくなることが示された。繊維化による揺らぎの増大は他の蛋白質でも報告があり、アミロイド形成などの蛋白質凝集状態の物性としてどのように一般化されるかは、今後の研究として興味深い。

#### 3.2 Protein Kinetics and Dynamics Measured by SANS presented by Dr. Rintaro Inoue (Kyoto University)

京都大学原子炉実験所の井上博士は、時計蛋白質とクリスタリンについての SANS を使った研究を中心に紹介した。

シアノバクテリアの時計蛋白質である KaiA、KaiB、KaiC は、複合体を形成し 24 時間周期で構造を変化させるという特徴がある (概日リズム)。この研究では、これまで不明であった KaiB と KaiC の相互作用様式を、複合体の溶液構造解析から解明し、その構造形成の同期性や結合様式について論じている。KaiB と KaiC の相互作用モデルはいくつか提唱されているが、これらモデルにおける KaiB と KaiC の相対配置の違いはそれほど大きくはない。この研究では CV-SANS により複合体における KaiB だけからの小角散乱を測定することで構造モデルの特定に成功している。この際に、75% 重水素化タンパク質と 100% 重水溶媒の散乱長が同じことを利用して、精度良い構造解析を行っている (図 3.1)。本研究の構造解析手法としての特徴はこの点にあり、中性子の長所を積極的に利用することで SAXS では分かりづらい詳細な複合体構造の議論

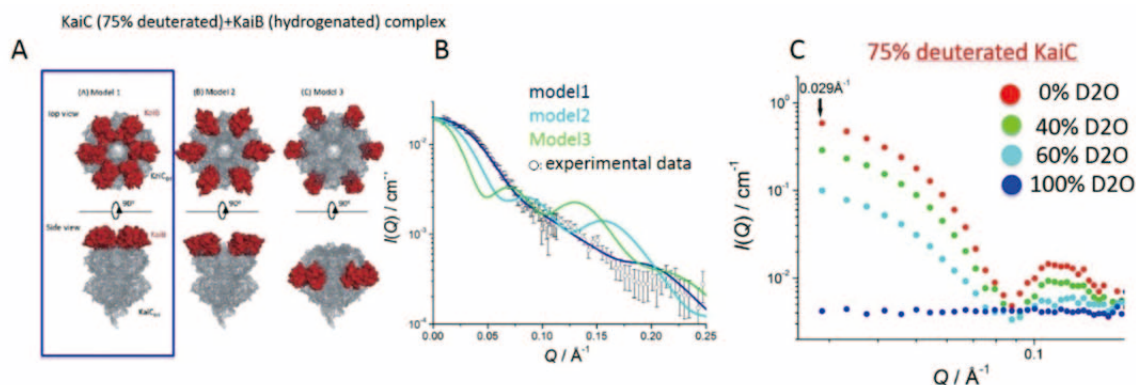


図 3.1 CV-SANS による時計蛋白質の溶液構造解析 (A)KaiB-KaiC 複合体のモデル構造、(B)SANS プロファイル、(C)75%重水素化蛋白質の SANS プロファイル

を可能にしており、75%重水素化タンパク質とコントラスト同調法は今後の SANS の重要な手法であると言える。

$\alpha$  クリスタリンは、眼の水晶体の主な構成要素であり、高い透明度の維持に必要な蛋白質である。このタンパク質は 20-30 のサブユニットから形成される複合体で、複合体間でサブユニットが交換していると考えられているが、そのダイナミクスの詳細は不明であった。講演では、D 化および H 化クリスタリンを混合後の SANS の原点散乱強度  $I(0)$  の経時変化から、サブユニットの交換ダイナミクスを見事に説明している (図 3.2)。さらに無変性質量分析法による解析から、サブユニットの交換には、遊離したモノマーの存在が重要であると結論付けている。この研究では、重水素化蛋白質を利用した SANS による溶液構造の動態を観測すると同時に SAXS では交換が見えないことを逆手に取って、SANS のエレガントな結果を際立たせている。また、無変性質量分析法を活用することで、交換メカニズムに対してさらに一步踏み込んだ考察をしている点も特徴である。SANS を研究の軸としつつも、構造科学的に生命現象を議論する際には相補的な計測手法を組み合わせることの重要性が分かる成果であると言える。

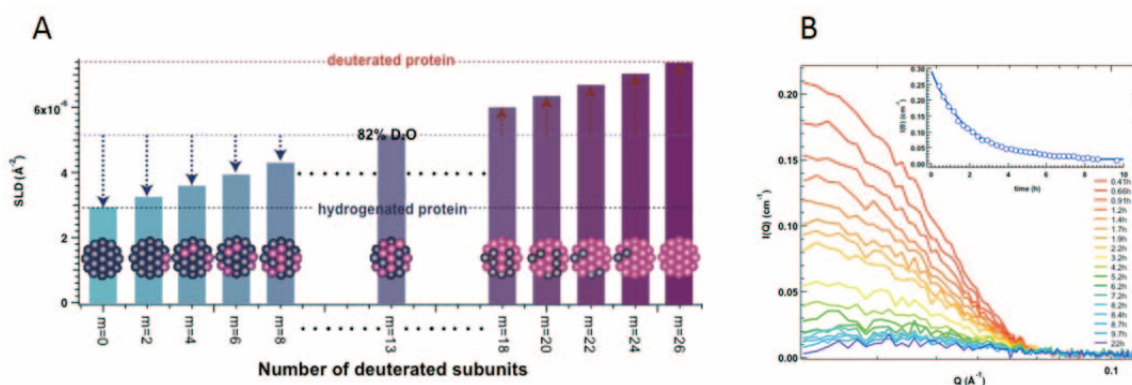


図 3.2  $\alpha$  クリスタリン複合体のサブユニット交換ダイナミクス (A)重水素化サブユニットの割合と中性子散乱長密度、(B)サブユニット交換に伴う SANS プロファイルの変化



### 3.3 Protein Physics and Biology — presented by Dr. Hiroshi Nakagawa (JAEA)

JAEA の中川博士は、蛋白質の動力学転移と、溶液蛋白質のダイナミクスの分子クラウディング効果についての研究を発表した。これらの研究では蛋白質に共通の物性を議論しており、前者の 2 名の発表のような個々の蛋白質の機能を議論する研究とは様相が異なる。このような蛋白質の基礎物性研究は物理化学的な側面が強調されがちであるが、極限環境耐性などの生命現象の理解や、応用面では生体物質の保存技術にも関わる生物学のテーマと言える。下記に紹介する研究はいずれもまだ生命現象との具体的な接点は見出せてはいないものの、これらの研究がベースとなって中性子による新しい生命科学の展開が期待される。

講演では、まず水和に伴って生じる動力学転移は、蛋白質表面にネットワーク状に広がった水和水のダイナミクスによって誘導されることを示された (図 3.3)。また分子シミュレーションによって、そのような蛋白質と水の動的カップリングは、互いの界面の水素結合相互作用を介して起こっていることも指摘している。生体分子の非弾性散乱研究では、水素原子由来の圧倒的に大きな非干渉性散乱を解析するため、データには本質的に構造情報を含まない。中川博士は分子シミュレーションを援用することでそのような欠点を補い原子分解能で構造ダイナミクスの解析を行うことを実現している。

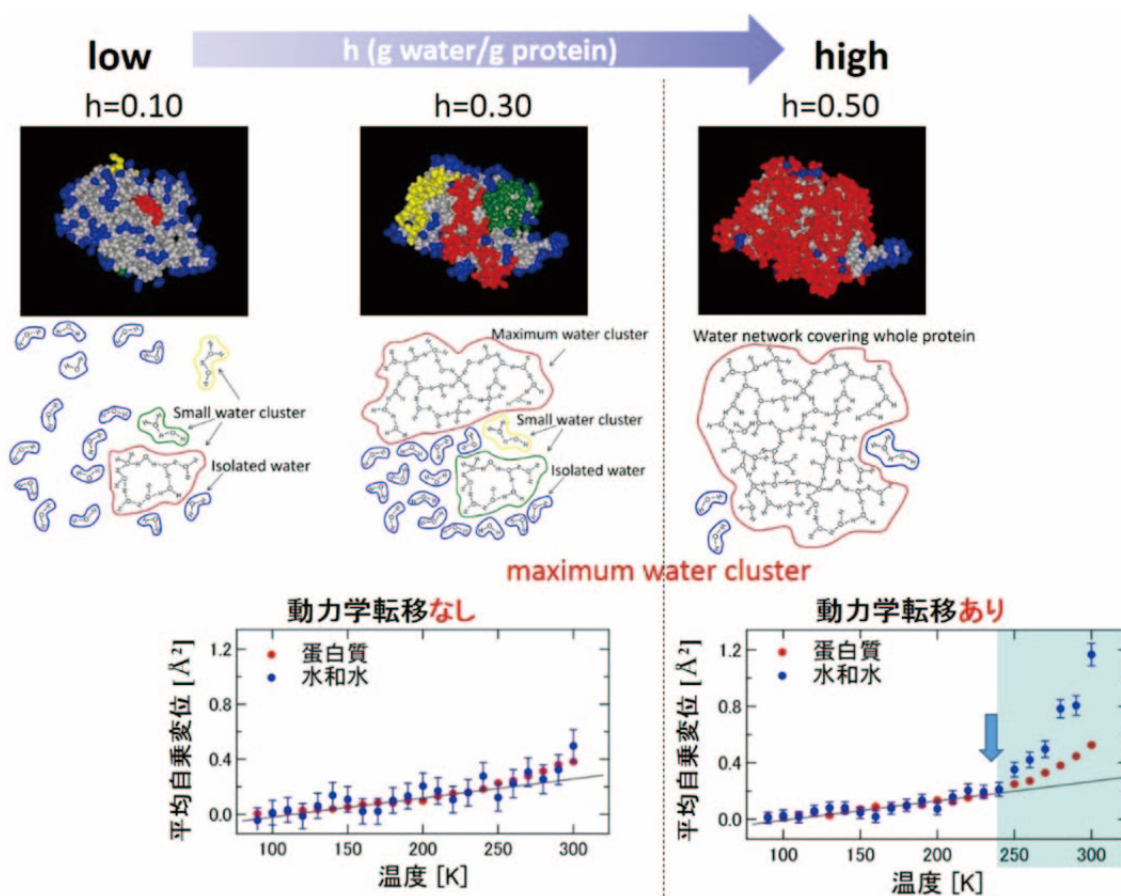


図 3.3 動力学転移における水和水の構造とダイナミクス

このことは、実験手法の弱みを補うだけでなく、実験データに潜在的に含まれている情報を引き出すという点においても、計算機の有効な活用法であると言える。

昆虫などの生物は、グリセロールを体内に蓄積することで耐寒性を獲得する。次のトピックスはこの点に関してグリセロール-水系における蛋白質ダイナミクスに関する研究である（図 3.4）。講演では中性子準弾性散乱により蛋白質の重心拡散と内部運動に分離することで、内部運動はグリセロール濃度の増加に伴って揺らぎが抑制されることを示した。特に、溶媒の水の水素結合ネットワークが局所的なクラスターに変化する時に、拡散的な揺らぎから局所的な揺らぎに変化することを示唆した点は大変興味深い成果と言える。



図 3.4 生体物質の物性研究とその応用研究

#### 4. Neutron Biology in Europe I (Dynamics) – presented by Dr. Ralf Biehl (FZJ)

本セッションは FZJ の Biehl 博士による中性子スピネコー (NSE) と中性子背面散乱 (BS)・飛行時間法 (TOF)を利用したタンパク質のダイナミクス解析に関する講演である。

講演内容は

- Dynamics of protein Under Crowding Environment (4.1)
- Domain Dynamics of Globular Protein (4.2)
- Dynamics of Intrinsically Disordered Protein (4.3)
- Dynamics of Immunoglobulin (4.4)
- Fast Dynamics of Protein as Revealed by BS/TOF (4.5)

の 5 つのトピックスにわたっている。以下に各トピックスの内容についてコメントを交えながら紹介する。

##### 4.1 Dynamics of protein Under Crowding Environment

生体において、生体分子はこれまで *vitro* 系で盛んに行われてきたいわゆる単成分希薄系では無く核酸、脂質、多糖、蛋白質などが非常に込み入った“crowding” という環境に存在している。このような環境下では排除体積や浸透圧などの希薄系では基本的に無視できる効果が顕著になるため、生体分子の構造・ダイナミクスが希薄系とは異なることが予想される。そこで、crowding 環境を模倣する一つの実験的アプローチとしてポリエチレングリコール (PEG) ゲルを crowding agent として用い、二つのタンパク質 ( $\alpha$ -ラクトアルブミン、ヘモグロビン) のナノ秒ダイナミクスへの影響を NSE で調べている。この研究では、特に PEG からの散乱寄与を消すために重水の散乱長密度と一致させた部分重水素化した PEG を調製した点が画期的と言える。得られたデータは free diffusion と slow diffusion の二つの寄与を考慮にいたした fractal diffusion model で解析を行っている。 $\alpha$ -ラクトアルブミンは PEG ゲルの網目による拘束を受けていないが、ヘモグロビンは PEG 濃度上昇に伴いダイナミクスの slowing down が観測されている (ゲルの網目密度に追随している) (図 4.1 参照)。この実験結果はタンパク質と PEG との相互作用の相違によると結論づけている。実験系は興味深い、今後は今回観測されたダイナミクスと実際の機能である活性がどのように相関して

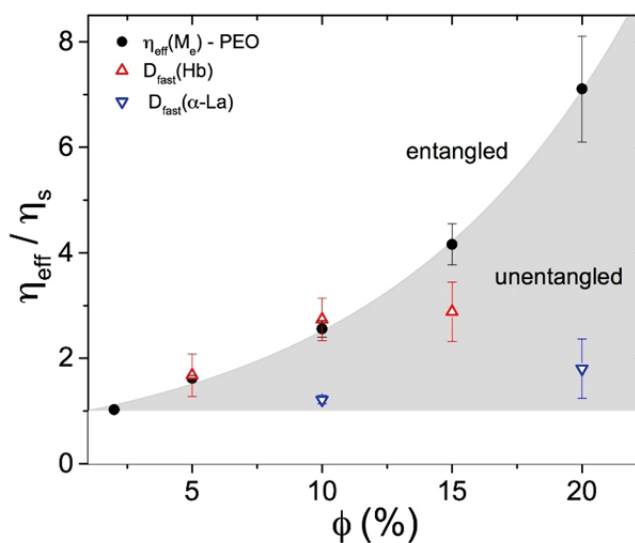


図 4.1 PEO (黒丸)、ヘモグロビン (Hb) (赤三角)、 $\alpha$ -ラクトアルブミン ( $\alpha$ -La) (青下三角) の有効粘度 ( $\eta_{\text{eff}}$ ) の PEG 濃度依存性

いるかの議論を進めることで、この研究の生命科学としての意義が深まると考えられる。一方、繰り返しになるが、上述したコントラスト同調法をNSEに組み込んだことは中性子科学の方法論の観点から意義が深いと言える。

#### 4.2 Domain Dynamics of Globular Protein

生物学的に注目している構成ドメイン間のダイナミクス（タンパク質自身が固有に持つ内部運動）に関する研究である。このような運動の解析では干渉の寄与が無い拡散定数の運動量依存性 ( $D_0(Q)$ ) を求める必要があるが、通常NSE測定において十分な統計精度を得るために数10 mg/ml程度のタンパク質濃度が要求される。そのため実測される  $D_{\text{eff}}(Q)$  に対して構造因子 ( $S(Q)$ ) 及び溶媒を通した流体力学的効果 ( $H(Q)$ ) などの干渉項の寄与が無視できなくなり、それぞれの寄与を考慮して解析を進める必要がある。 $S(Q)$  に関してはSAXS 或いはSANSで直接測定可能ではあるが、 $H(Q)$  に関しては真球を除いては解析的或いは実験的に求めることは出来ない。しかしながら、図4.2に示すように構造的にflexibleなタンパク質の場合は内部運動の寄与が顕著に観測される  $Q$  領域においては  $H(Q)=\text{定数}$  と  $Q$  依存性を考慮した  $H(Q)$  の二通りで補正した  $D_{\text{eff}}(Q)$  には差異が見られないと主張している。つまり、 $H(Q)=\text{定数}$  としても内部運動を引き出すという目的においては問題がなく、更に  $H(Q)$  は粘度測定により一義的に得られるとして解析を進めている。そのため実際の測定では統計精度の向上が困難な低濃度試料の測定（上述した干渉項の寄与は無視できる利点はある）よりも高濃度で統計精度の高いデータを得ることが現時点のNSEの性能を考慮すると得策であると主張している。

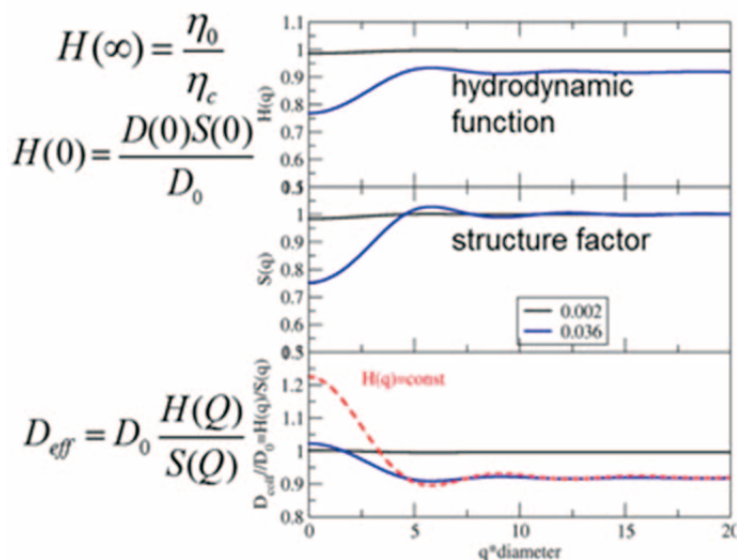


図 4.2 上図  $H(Q)$  の  $Q$  依存性、中図  $S(Q)$  の  $Q$  依存性、下図  $D_{\text{eff}}(Q)$  の  $Q$  依存性、ただし、赤破線は  $H(Q)=\text{定数}$  とした場合の  $D_{\text{eff}}(Q)$  の  $Q$  依存性

また、正確に  $D_0(Q)$  が求められたとしても、この  $D_0(Q)$  にはドメイン運動のみならず並進+回転拡散 (rigid body motion) が含まれているため、 $D_0(Q)$  における rigid body motion からの寄与を正しく評価し分離する事が必要となる。したがってタンパク質の内部運動の記述法にも論点が存在するが、本講演ではその点には触れずに基準振動解析 (normal mode analysis, NMA) のみを用いていた解析を行っている。

今後の課題としては、「データ処理の手法として高濃度でも本当に  $H(Q)$  は  $Q$  に対し



て定数として扱って良いか？」という疑問点が存在する。また、解析においては rigid body motion の記述に関して、基本的には結晶構造をベースにしているのでどの程度回転拡散を正しく表現できているかも今後検討する必要があると考えられる。このような疑問は存在するが、NSE を用いたタンパク質の内部運動の解明が発展していることを印象付ける研究であった。

#### 4.3 Dynamics of Intrinsically Disordered Protein (IDP)

4.2 では globular タンパク質の内部運動に注目したが、こちらのテーマでは天然変性タンパク質 (IDP) である Myelin Basic Protein (MBP) の内部運動の記述を目的としている。最初のアプローチとして合成高分子で用いられてきた「ばねビーズモデル」(Zimm model) で解析を行ったところ、中間散乱関数をうまく記述することが出来なかった。その原因として Zimm model はビーズ間隔以下の距離でのダイナミクスを無視しているためであると考え、ビーズ間の相互作用 (内部摩擦) を考慮した Zimm Friction model (ZIF model) を用いて再度中間散乱関数の解析を試みたが、依然として系統誤差が確認されている (図 4.3 (B) の下図の残差プロットを参照)。そこでより実測データを的確に表現するために以下の式を用いて実測の中間散乱関数の表現を試みた。

$$\frac{I(Q, t)}{I(Q, 0)} = \{[1 - A(Q)] + A(Q)\exp(-\Gamma t)\} \times \exp\left(-q^2 D_t \frac{H_t}{S(Q)} t\right) \\ \times \left( \sum_{l=0}^{15} S_l(Q) \exp(-l(l+1)D_t H_{tt}) \right) / \sum_{l=0}^{15} S_l(Q) \\ S_l(Q) = \sum_m \left| \sum_i b_{ijl}(Qr_i) Y_{l,m}(\Omega_i) \right|^2$$

ここで、 $D_t$ ,  $D_r$  はそれぞれ並進拡散、回転拡散係数である。特に回転緩和の中間散乱関数への寄与を組み込むために球面ベッセル関数 ( $j_l(Qr)$ )、球面調和関数 ( $Y_{l,m}(\Omega_i)$ ) 及び散乱長 ( $b_i$ ) のそれぞれの項を考慮した。また、粒子間干渉、並進拡散への流体力学的効果、回転拡散への流体力学的効果をそれぞれ  $S(Q)$ ,  $H_t$ ,  $H_r$  により組み込んでいる。更に、緩和速度 ( $\Gamma$ )、amplitude ( $A(Q)$ ) を有すると仮定した内部運動の寄与も考慮に入れてある。なお、もし内部運動の寄与が無ければ  $A(Q)=0$  となるので rigid body motion からのみの運動となる。式により得られた中間散乱関数は Zimm model や ZIF model と比較してより良く実験結果を再現できたと言える (図 4.3 A の実線及び下図の残差プロット参照)。更に、 $A(Q)$  の  $Q$  依存性は MBP の屈曲及び伸長運動に対応する低周波数基準振動運動である NM 7 及び NM 8 の組み合わせで表現できることを示した。言い換えれば、MBP の内部運動は屈曲及び伸長運動により支配されていると言える。ただ、rigid な構造を持たないことが IDP の本質であるのにどのように rigid body motion の寄与を決めたのか？ また、大規模な変位が起こりうる IDP の internal dynamics を

NMA で記述することは正しいのか？と色々な疑問が残る。構造もダイナミクスも MD simulation を併用した解析により詳細な情報が得られる可能性があるのではと期待している。

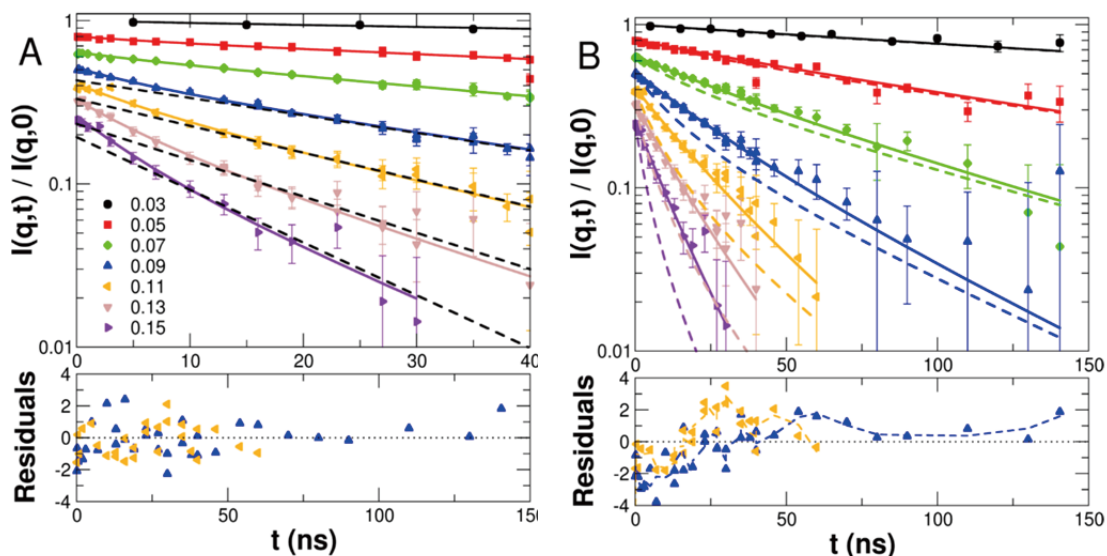


図 4.3 A 式(1)による中間散乱関数の解析結果 (実線) 20 ns 以上の時間領域のデータに対する指数関数による解析の結果 (破線) B Zimm model による解析結果 (破線)、ZIF model による解析結果 (実線)

#### 4.4 Dynamics of Immunoglobulin

本テーマではこれまでの手法を応用して巨大な免疫グロブリン (IgG) のダイナミクス解析を行っている。系自体が解離会合を伴う複雑系であるため分析超遠心法で monomer と dimer の比率を決定し、その組成比を用いて SAXS, NSE のデータ解析

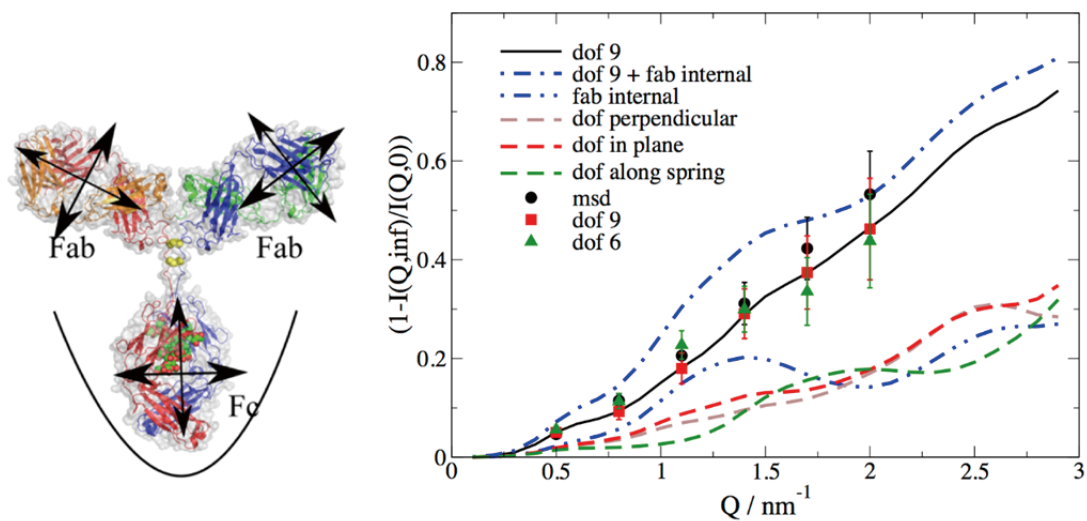


図 4.4 Fc 及び二つの Fab から構成される IgG 及び3つのドメインの自由度を変えた内部運動の amplitude の  $Q$  依存性

を行っている点の特徴である。更に NSE の解析では IgG のドメイン間の動的な相関は無いと仮定して、3つのドメインに対して NMA を行いどのような運動がもたらしているかを調べている (図 4.4 参照)。

#### 4.5 Fast Dynamics of Protein as Revealed by BS/TOF

準弾性散乱 (Quasielastic Neutron Scattering, QENS) の測定法である BS/TOF を用いて得られるタンパク質のダイナミクスの解析は、現在でも主に Doster らが行った水素原子の平均 2 乗変位の温度依存性およびローレンツ関数の足しあわせで表現する事が多く、解析的手法としては古典的であり新たな視点での手法が期待されている。また、エネルギー分解能の異なるデータが同じ土俵で比較されていることも多い点も問題である。そこで、本研究では NSE から求められたパラメータを用いて BS/TOF 測定から得られた QENS データの解析を行っている (図 4.5)。その結果、タンパク質の表面の原子 (全体の 37%のみ) のみが動いていることを初めて明らかにしている (注: 残りの原子は動いていない)。これまでとは違った観点で解析を行った点が興味深く、計算機シミュレーションと組み合わせると更に情報が増える印象を受けた。現在 ILL で建設中の WASP (wide-angle spin echo) を用いるとタンパク質の干渉性・非干渉性運動を同時に測定できると期待したい。

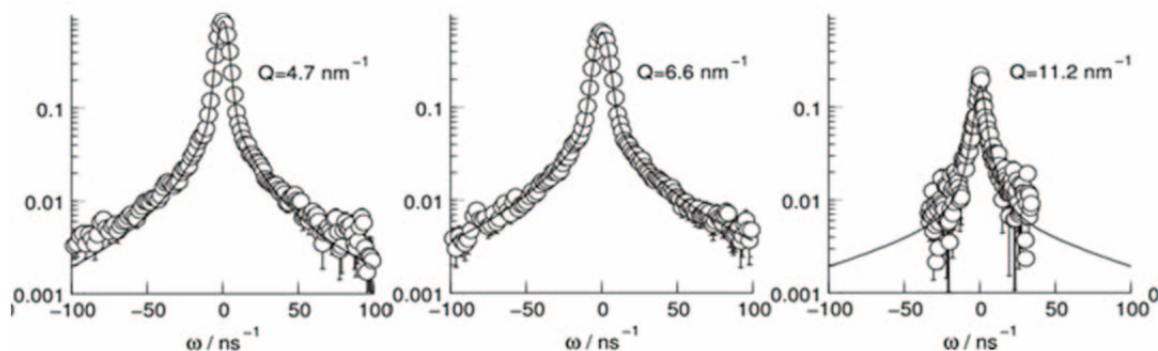


図 4.5 BS 及び TOF から得られた QENS データ及び水素の 3つの異なる運動度を仮定したモデルによる解析結果

#### 4.6 Summary

Bihel 博士の最初の protein dynamics の論文は 2005 年 PNAS に掲載された taq. Polymerase の研究であった。その後、測定・解析手法の開発・改良とともに様々な系に測定対象を展開しており、今回の講演は現時点での集大成と思われ流石に聞き応えがあった。以前の博士の研究スタンスは NSE 一辺倒であったが、最近 NMR や分析超遠心などの他の手法も利用した協奏的な解析を強く意識している印象を受け、今後日本でも中性子を用いたダイナミクス (NSE、TOF、BS) 研究を進めるためには

- ① 他の実験手法との連携

- ② 計算機シミュレーションの積極的な活用
  - ③ 解析の最終結果として機能（活性）の解明
- を意識する=Integrative Biologyの志向が重要と痛感させられた。

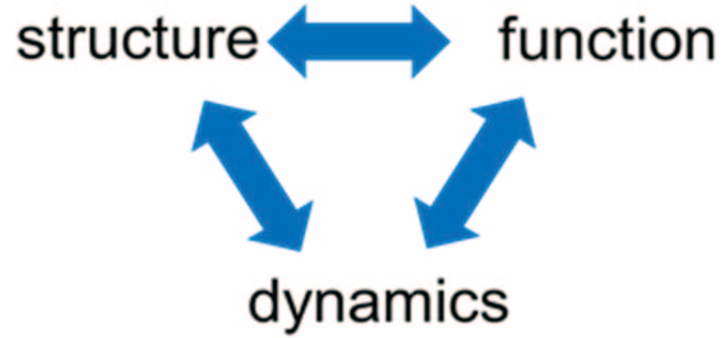


図 4.6 構造、ダイナミクス、機能の密接な相関



## 5. Neutron Biology in Europe II (Solution scattering) – presented by Dr. Frank Gabel (IBS)

本セッションは欧州における中性子溶液散乱を用いた生物研究の第一人者である IBS の Gabel 博士による講演である。講演の内容は今回のテーマである

“What did we do up to now?”

“What can we do now?”

“What will we do in the future?”

AND

“What should we do for next generation?”

に沿い、歴史的な業績から最新の成果さらに将来の方向性までを含んだ幅広い内容であった。Gabel 博士からの講演を通じたメッセージは、以下の 2 点に集約されると言える。

- 中性子溶液散乱では重水素化を利用したコントラスト変調技術を最大限に生かすべきである。
- 中性子散乱のみだけでなく様々な手法を組み合わせ、多面的な測定・解析法を構築すべきである。

以下、講演内容を中性子溶液散乱法の時間的发展に沿って行われた Gabel 博士の講演順に従い紹介する。

### 5.1 Historical Review 1 –dawn to 2000

まずは、重水素化を利用した初期の研究のトピックとして、triangular method と呼ばれる重水素化とコントラスト変調法を組み合わせる複合体の中の 2 つのサブユニットの配置を求める手法の紹介があった。この手法の利点は、対象サブユニットの散乱長密度を重水素化により変調させた試料の組を用意するだけで、他の媒質部分には「どのようなタンパク質・核酸」＝「どのような散乱長成分」が含まれても良い点である。欠点は、対象とする 2 つの成分「のみ」を重水素化した試料の精密な調製が困難であることと、非常に微小な散乱強度の変化を測定するために高強度及び高 S/N の中性子小角散乱分光器を必要とする事である。(この時代に後者の問題点を乗り越えた努力は尊敬に値する。)

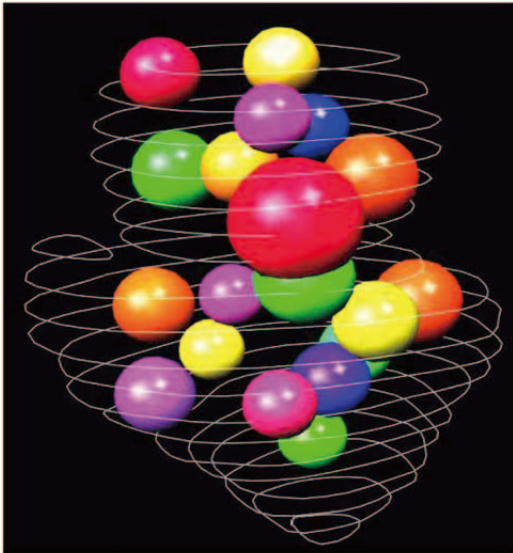
試料の複合体中の Subunit A と Subunit B の配置を求める場合、具体的には以下の 4 つの試料を必要とする。

- ① Subunit A のみ重水素化した試料
- ② Subunit B のみ重水素化した試料
- ③ 両者とも重水素化した試料
- ④ 両者とも重水素化していない試料

解析に関しては詳しくは成書を参照してもらおうと良いが (例えば Feigin, L. A., and D. I. Svergun, 1987. Structure Analysis by Small-Angle X-ray and Neutron Scattering. Plenum Press, New York)、この 4 者の中性子小角散乱関数を利用すれば、Subunit A と Subunit B の 2 体相関の散乱曲線を導出することができ、そこから両者

の複合体中の配置を求めることができる。この手法を用いた研究のハイライトは図 5.1 に示した P. B. Moore 等による 30S リボソームの構造解析である。彼らは 30 以上の組み合わせによる測定を行い、それぞれのサブユニットの配置を求め図 5.1 に示した構造を導出している。

## Ribosome at low resolution



M.S. Capel, D.M. Engelman, B.R. Freeborn, M. Kjeldgaard, J.A. Langer, V. Ramakrishnan, D.G. Schindler, D.K. Schneider, B.P. Schoenborn, I.-Y. Sillers, S. Yabuki, P.B. Moore (1987) *Science* **238**, 1403-1406

Map of the 30S ribosomal subunit from *E. coli*. Each protein is represented by a sphere whose volume is the same as that of the protein. The maximum linear dimension of the array is about 190 Å.

図 5.1 triangular method による 30S リボソーム構造解析

*courtesy Roland May*

### 5.2 Historical Review 2 –2000 to present

高強度のシンクロトロン光源の登場と位相決定手法の発展により、1990年代からは X 線結晶構造解析が急速に進展し、多くのタンパク質の構造が精密に解かれていった。一方で、SANS は多くの試料を必要とすることと得られる構造情報の少なさのため特殊なケース以外にはあまり用いられなくなっていく。(ただし、SAXS では上記の欠点を克服するためにこの時期に計算機を利用した *ab initio*-3D modeling が発達する。)その後、タンパク質の構造解析のムーブメントが一段落した 2000 年後半ごろから、機能発現機構としてタンパク質自身の構造変化と他のタンパク質や核酸との特異的な会合が注目されるようになると、構造変化・解離会合は溶液中で進行することもあり、溶液散乱が再び脚光を浴びる事となる。また、本質的に単体では明確な秩序構造 ( $\alpha$ ヘリックスや  $\beta$ シート)を持たない(少ない) *Intrinsic Disordered Protein* (IDP) が真核生物の機能性タンパク質の多くを占めることが示されると、結晶化が困難であるこれらの IDP (とその複合体)の溶液散乱による構造解析の重要性は更に増すことになる。(これらの研究においては、従来からの中性子溶液散乱の利点であったコントラスト変調を利用した複合系の各成分の配置(その変位)を求める手法が有効である。)それに加えて「高強度の分光器」と「これまでになかったレベル」の「高純度試料の調

製」「精密変異導入」「高精度試料重水素化」といった技術進歩の貢献も大きく、非常に高い精度で目的タンパク質の散乱データを得る事が可能になった点も無視できない。更により複雑または大規模な構造を SANS 単独でなく計算機 simulation や種々の手法と協奏的に用いた解析も行われ始めている。簡潔にまとめると現在の溶液構造解析の潮流は高強度分光器・高純度試料（含む重水素化試料）・計算機 simulation 解析・他手法との協奏的解析であると言える。

このような現代の中性子溶液散乱は、生物学的にも注目を集める結果を提出しており、講演ではそのような 3 つの研究例が紹介された。

### sRNP の構造解析（巨大タンパク質—核酸複合体の構造解析）

この研究は rRNA 前駆体をメチル化する box C/D small nucleolar RNA–protein complex (sRNP) の溶液構造解析である。結果からの説明で順序が逆であるが研究対象の sRNP の構造は図 5.2 に示したようにガイド RNA（図 5.2 赤）と 3 種類のタンパク質（L7Ae：図 5.2 緑, Nop5：図 5.2 灰色, FIB：図 5.2 青）から構成されている。この構造から分かるように 2 つの L7Ae がガイド RNA の box C/D and C'/D' motifs にそれぞれ結合し、Nop5 がその結合面を認識することで複合体として安定化させている。（その際に Nop5 は 2 量体化している。）更に、FIB がメチル化のためにこの複合体に結合し大規模な sRNP が構成されている。この研究以前にも結晶解析により sRNP

## Information contained in SANS data: positions of proteins/RNA within the complex

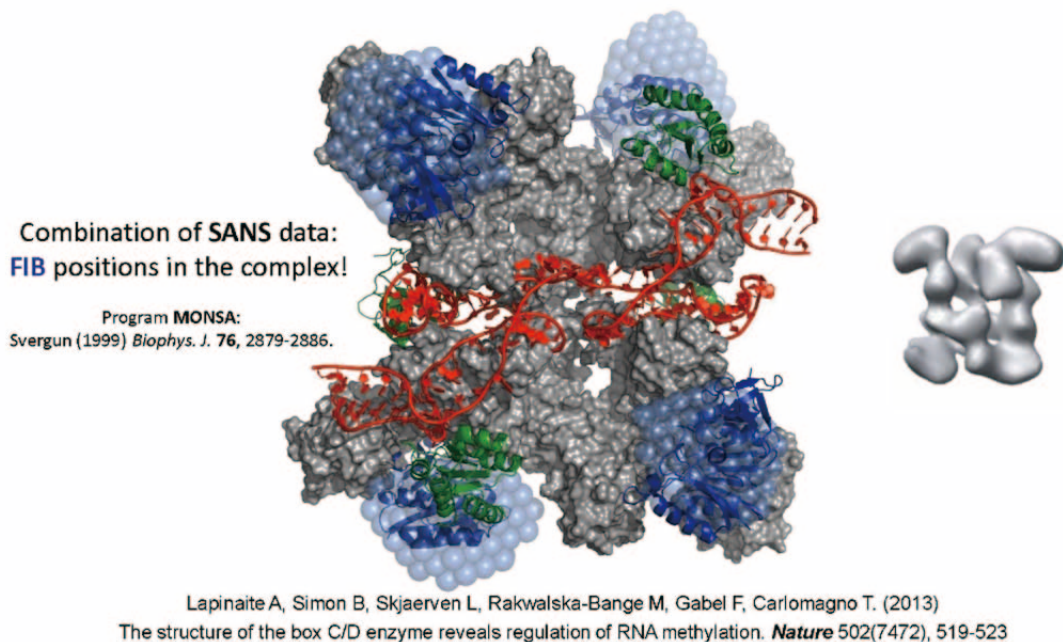


図 5.2 sRNP の構造（RNA：赤、L7Ae：緑、Nop5：灰色、FIB：青）。右は EM により示唆された構造

の構造は示されていたが、その構造は生理的条件に近い状態での構造と考えられる電子顕微鏡観測 (EM) の結果とは異なっていた。(結晶構造解析の結果は「特殊な条件下=二本鎖の RNA を含有している場合」の構造であるというのが有力であった。) ただし EM の結果では RNA・タンパク質の配位の詳細は判明しておらず最終的な構造は確定していなかった。そこで、本研究では NMR、SAXS・SANS を相補的利用した溶液構造解析により各パーツの配置決定を行い、この巨大複合体の溶液構造を明らかにすることが目的であった。

研究ではまず NMR を用いて Nop5 と FIB の相互作用面を明らかにし、SAXS・SANS では NMR の結果も参考にして全体構造を構築している。ここでは講演で重点的に紹介された溶液散乱手法を簡単に紹介する。SANS の役割はいわゆるコントラスト同調法を用いた部分構造の解明=配置解明である。具体的には以下の試料を用意して、42%/58% D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O 溶液中で SANS 測定を行い、d 体 (赤字) のみの散乱曲線を抽出している。(ただし、⑥の試料については 100%H<sub>2</sub>O 溶媒中で SANS と SAXS 測定を行っている。)

- ① dRNA+hL7Ae+hNop5+hFIB
- ② hRNA+hL7Ae+dNop5+hFIB
- ③ hRNA+hL7Ae+hNop5+dFIB
- ④ hRNA+dL7Ae+hNop5+hFIB
- ⑤ dRNA+hL7Ae+hNop5+dFIB
- ⑥ hRNA+hL7Ae+hNop5+hFIB

解析ではこれらの複数の試料から得られた全ての散乱曲線を満たす構造をプログラム (MONSA: 詳細は論文参照) により選び出している。その結果は図 5.2 に示したように各パーツの配置も解明できており、また、右側に示した EM で得られた構造とも良い一意を示している。論文では同様に解析した基質 RNA が結合した際の構造 (holo 型) も示されており、基質結合時の構造変化およびメチル化部位の認識機構についても論じられている。興味ある方は是非原著論文を一読することを勧める。

### TET2-TET3の構造解析(コントラスト変調+重水素化ラベリング+計算機simulation)

本研究は SANS の利点であるコントラスト変調+重水素化ラベリングを最大限に駆使した複合体形成プロセスの解明である。研究対象のアミノペプチダーゼである TET2、TET3 はそれぞれホモ 12 量体を形成するが、興味深い事に両者を混合するとヘテロ 12 量体を再構成する。この 12 量体では各成分が 2 量体を形成し、その 2 量体が稜線に位置している 4 面体構造であると推定されているが、TET2、TET3 の 2 量体の配位は明らかになっておらず、そのため再構成プロセスおよびその機能との関連が不明である。そこで、本研究では重水素化 TET2 (dTET2) と軽水素化 TET3 (hTET3) を用いてヘテロ 12 量体の 4 次構造の解明を行っている。解析の手順は以下の通りであるが、まさに現代の中性子溶液散乱の神髄を駆使した内容である。

- ① dTET2-hTET3 の 12 量体を再構成する。ただし、イオン交換カラムからは 2 種類



のヘテロ 12 量体が溶出している。(それぞれ Peak1、Peak2 と命名している：図 5.3 中に示した文献を参照のこと。)

- ② SANS 測定を 4 つのコントラスト (0%, 42%, 70%, 100%D<sub>2</sub>O) で行う (図 5.3 下段左参照：試料は Peak1)
- ③ 計算機を用いて可能な全ての 4 面体構造 model を構築する。(図 5.3 中段参照：図 5.3 中に示した文献では 8 つの構造モデルを構築している。)
- ④ それぞれのモデルの各コントラストでの SANS 曲線を求め (図 5.3 下段左参照)、実験データに対する  $\chi^2$  を計算し、スコアー表を作成する。(図 5.3 中に示した文献を参照のこと。)

## Quaternary topology of a hetero-dodecameric TET2:TET3 complex by SANS

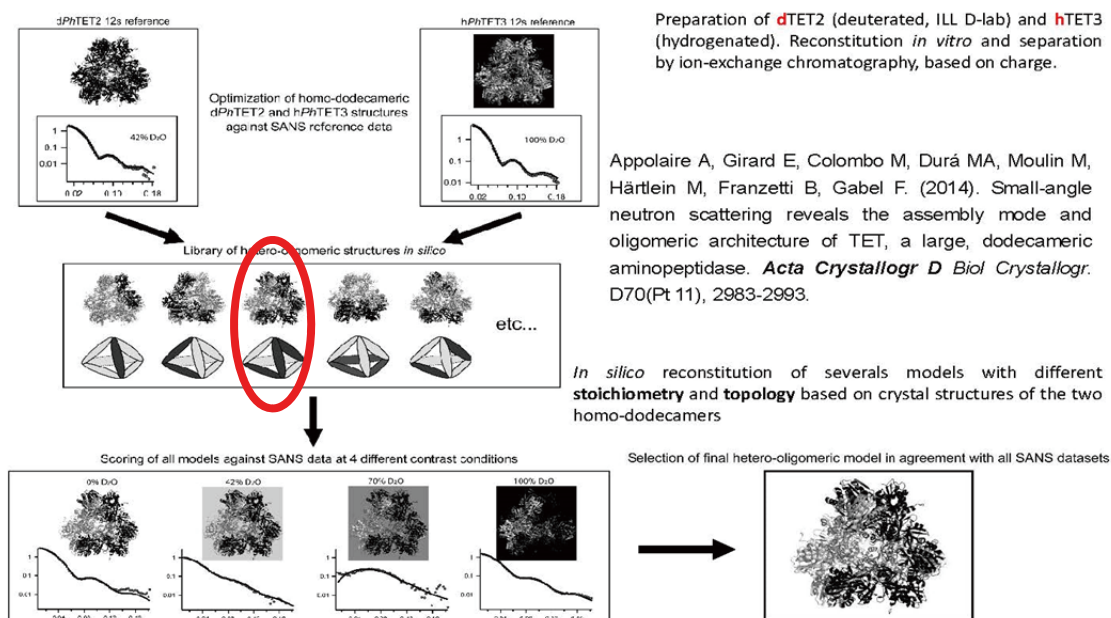


図 5.3 TET2-TET3 複合体解析のチャート図

面白い事に 1 つの散乱曲線 (コントラスト) に対して良いスコアーを示す構造モデルはいくつか存在するが、全ての散乱曲線に対して良いスコアーを示す構造は 1 つしか存在しない。Peak1 の構造は全ての散乱曲線に対して良いスコアーを示した図中段の左から 3 つ目の構造モデル (赤丸：TET2 が Z 型に配置) であると結論付けている。(図 5.3 下段右)

上記研究では試料が ILL の重水素化ラボ作成されていることから分かるように、「現在の発展した重水素化技術」と「それを汎用化させようという努力」があつてこそ可能になった研究である事を付け加えたい。このことは今後のわが国における中性子生物学の発展のために必要な施設・姿勢を示唆しているともいえる。(高強度の中性

子小角散乱分光器=D22 の存在も当然無視できない。) つまり、重水素化ラボと高強度 SAXS 分光器は溶液中性子生物学の両輪と言えよう。

**水和層の表面電荷依存性 (SAXS/SANS の協奏的利用)**

3 つ目は SAXS と SANS の特徴を活かしたタンパク質表面の水和層の研究である。溶液散乱を用いたタンパク質表面の水和層の研究はこれまでも行われてきているが本研究の特徴は、

- SAXS、SANS を相補的に用いている。
- SANS ではコントラスト変調と重水素化を併用している。
- 表面電荷密度の異なるタンパク質変異体を用いて平均的な水和層でなく表面電荷による水和層の変化を求めている。

という 3 点が挙げられる。試料には表面電荷の異なる 3 種類の GFP (変異体) を調製し、SAXS 測定と 3 種類の SANS 測定 (h 体@100%, h 体@8%D<sub>2</sub>O, d 体@100%) を行っている。これらから得られた散乱曲線を用いて、以下の解析を行っている。

**Influence of surface charge on hydration shell? Joint SAXS/SANS!**

	GFP(-6)	GFP(-29)	GFP(+36)
SAXS			
HS $\Delta\rho / \rho_{bulk}$ (%)	5.00 ± 0.57	8.80 ± 0.62	4.13 ± 0.31
SANS (100 %)			
HS $\Delta\rho / \rho_{bulk}$ (%)	0.00 ± 0.00	2.65 ± 0.60	0.27 ± 0.47
SANS (8 %)			
HS $\Delta\rho / \rho_{bulk}$ (%)	(0.00±0.00)	(0.00±0.00)	(0.00±0.00)
d-SANS (100 %)			
HS $\Delta\rho / \rho_{bulk}$ (%)	0.95 ± 0.35	N.D.	0.00 ± 0.00

Offset?

**Residue-specific densities!  
Denser around acidic residues**

Kim, H.S., Martel, A., Girard, E., Moulin, M., Härtlein, M., Madern, D., Blackledge, M., Franzetti, B. and Gabel, F. (2016) SAXS/SANS on Supercharged Proteins Reveals Residue-Specific Modifications of the Hydration Shell. *Biophys. J.* 110(10), 2185-2194.

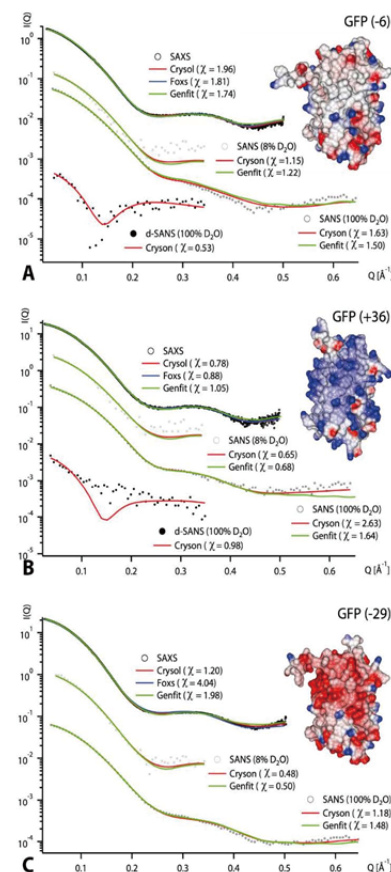


図 5.4 SAXS と SANS の協奏的利用による酸性表面、塩基性表面、中性表面における水和層の相違の解析

- ① 散乱曲線の Fitting から各試料の水和層の総電子数を実験的に求める。
- ② 各試料の酸性表面、塩基性表面、中性表面の面積を求める (PyMOL を用いる)。
- ③ 酸性表面、塩基性表面、中性表面でのバルク水に対する電子数密度比を変数として与える。

- ④ ②と③を用いて各試料の水和水の総電子数を酸性表面、塩基性表面、中性表面のバルク水に対する電子密度比を変数として与える。
- ⑤ ①と④より各試料の水和層の総電子数を基にした連立方程式が立て、その式を解き、酸性表面、塩基性表面、中性表面でのバルク水に対する電子密度比を求める。
- 結果を図 5.4 に示すが、変異体に応じて表面水和層中の総電子数が異なり、解析により酸性表面で水和水の密度が他に比べて高くなっていることを明らかにしている。

### 5.3 Future Outlook

講演では Gabel 博士からの今後の Neutrons in Biology について強いメッセージがあった。図 5.5 に示すように現在の構造生物学においては多様な手法を用いて、多様な条件下（結晶、溶液）での構造解析が行われている。一方、構造解析に続く機能発現機構の解明が生物学の目標の一つであるならば「測定ができる条件での精密構造解明」だけでなく「より機能発現時に近い条件での構造変化・解離会合などの複合体構造の解明」が必要となる。この目的のためには、単一の手法ですべてを解明しようとするのではなく、それぞれ得意な手法を組み合わせた“Integrative Structural Biology”と言う考え方が重要である。

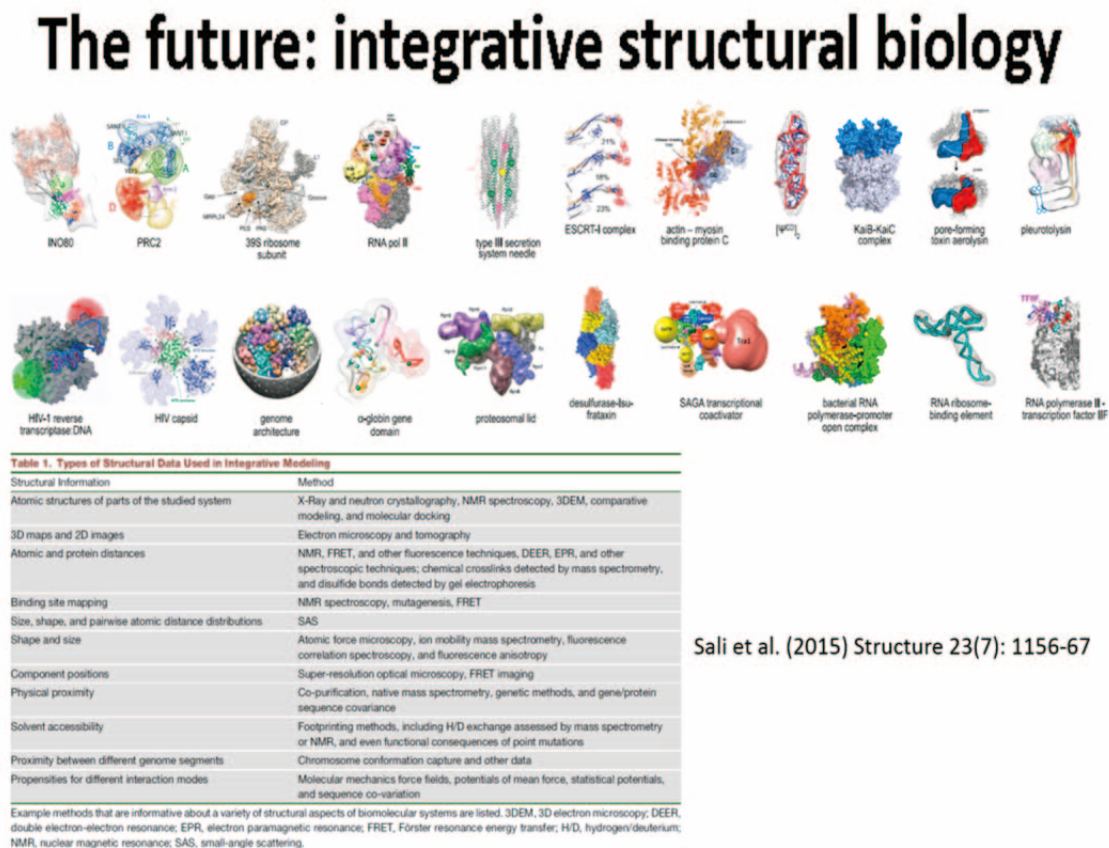


図 5.5 多様な手法による構造解析



この中で中性子溶液散乱は重水素化技術を生かしたコントラスト変調法（若しくは同調法）を駆使して、各 domain の配置を含めた部分構造の解明を担う事が期待される。当然異なるコントラストを持つプローブとしては X 線小角散乱法、また、距離相関のデータや結合の有無をしめすものとして NMR 法の相補的利用は重要である。さらに各データを統合し矛盾なく 3 次元構造を再構築するためには計算機 simulation が重要な役割を果たす事は言うまでもない。上記をまとめた各方法論と SAXS・SANS の相補利用の関係を図 5.6 に示す。より詳しく知りたい方は図 5.5 中に示された文献を参照されたい。

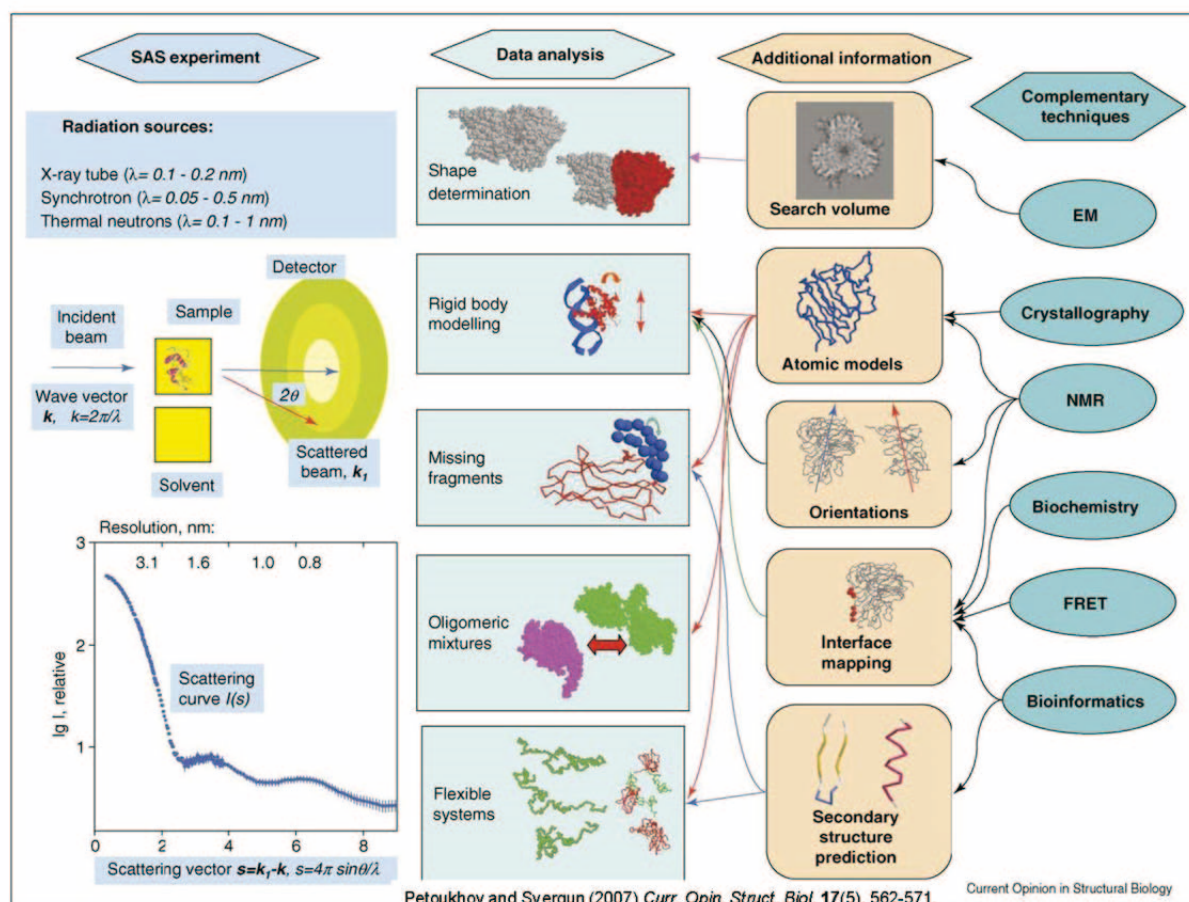


図 5.6 溶液散乱から見た種々の手法を組み合わせた協奏的解析のチャート

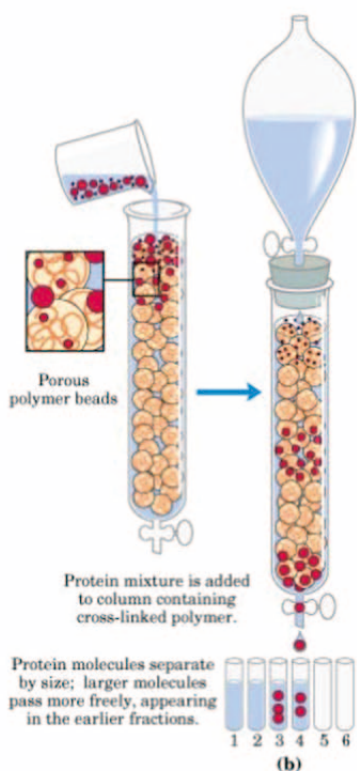
最後に SANS の測定手法そのものの将来展望も紹介された。それが図 5.7 に示した SEC (Size-exclusion chromatography) - SANS である。現在、X 線小角散乱では小角散乱の大敵である異常凝集を避けて測定を行うために SAXS セクションで述べたように SEC-SAXS 法が主流となつつあるが、これはその手法を SANS に持ち込んだものである。システムは現在 ILL の D22 に設置されているが、工夫を凝らしたセルシステムにより HPLC からの溶出液を直接 SANS 測定することを可能としている。更に驚くべき



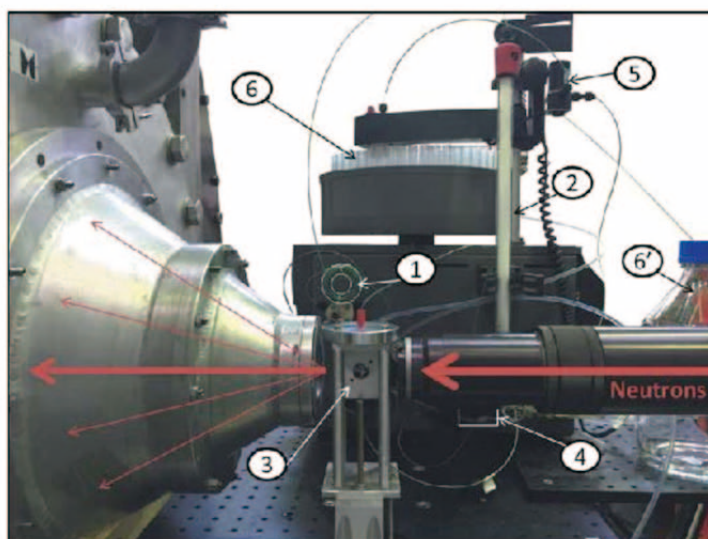
ことに論文では 40%D<sub>2</sub>O 溶液などを用いた SEC-「CV」-SANS 測定も可能であることが示されている。

「凝集を如何に避けるか?」は小角散乱測定での最大の課題である。この SEC-SANS 法はこれを避ける一つの解決法を提示している。更に中性子の利点であるコントラスト変調（同調）が加わっており、今後新たな測定の地平線が拓けることは間違いない。この SEC-CV-SANS 法を「ILL だからできる方法」と考えず、中性子の利点である放射線損傷の低さを活かした試料の再利用などの工夫を施すことで、J-PARC/MLF などの他の分光器に設置されることを期待したい。

## Size-exclusion chromatography (SEC) SANS



© University of Arizona



Setup of *in situ* chromatography SANS. The sample is manually injected into the loop (1), then it passes through the size exclusion column (2), the SANS sample cell (3), the UV-visible spectrophotometer (4) and the valve (5), which directs it either to the fraction collector (6) or to the waste container (6').

Jordan, A., Jacques, M., Merrick, C., Devos, J., Forsyth, V.T., Porcar, L. and Martel, A. (2016) SEC-SANS: size exclusion chromatography combined *in situ* with small-angle neutron scattering. *J. Appl. Crystallogr.* **49**(Pt 6), 2015-2020.

図 5.7 SEC-SANS システム (D22@ILL)

## 6. Round-Table Discussion – chaired by M. Sugiyama (KUR)

講演終了後、Workshop 出席者全員が参加して、中性子生物学の今後の方向性および我々がすべき事柄についての討論を行った。討論の際に用いた資料を文末に添付する。

(付録 5：これは各講演を聞き、現場で杉山がまとめたものである。)

まず、各分光器の現状・今後についてのまとめの確認を



を行い、その後、今後の構造生物学の Scientific target についての議論を行った。資料(付録 5)に挙げた項目は講演者によって紹介された内容とも一致しており、これらの項目が今後の主たる研究対象となる事は全員の共通認識となった。次に、「これらの研究対象に対して中性子としてどのようにアプローチしていくか?」という methodology の視点での議論を行った。ここでは、その議論の結果を簡潔にまとめる。

### ① 重水素化

参加者全員の共通認識として溶液散乱法 (SANS, BS など) においては「**重水素化を用いたコントラスト変調は必然である。**」が成立していると言える。講演でも示されたが各研究対象において「いかにコントラスト変調を効果的に用いるか?」が実験系構築のためには重要な点であり、この点において適用例と手法の一層の開拓・開発が必要である。Crowd 系や精密コントラスト同調を目指す場合、重水素化度の精密制御法・高精度重水素化率決定法の確立・低コスト及び大量調製法の開発が今後の課題であるといえる。

一方、結晶構造解析において、重水素化の必然性についての議論があった。「水素を見る」という点においては、全水素の重水素化は必然でなく、費用対効果や結晶作成の困難さも考慮すると重水溶媒中での試料作製で十分であるという意見があった。重水素化はバックグラウンドの低減につながる技術でもあり、貴重なマシンタイムや試料サイズにも影響する。したがって、この点に関しては、iBIX、BIX 等による実験データを用いた比較検討議論を今後期待したい。

### ② 動的測定法

中性子溶液散乱という点では、生体高分子の動的な様態解明が今後ますます重要となるという認識で議論を行った。特に BS によるデータ解析法では Doster 等が始めた水素原子の平均二乗変位の温度依存性の評価及びローレンツ関数で表現した QENS のスペクトルの半値幅をジャンプ拡散モデルで解析するという手法が未だに行われている。古典的な手法は重要であるが、新たな測定法・解析法の開発により現代の高性能分光器の

性能を最大限に発揮することを期待したい。この点で、講演でもあった計算機とカップルした解析手法が提案されつつある点に期待したい。

また NSE によるタンパク質のドメイン運動の解析については、装置のフーリエ時間が数 100 ns 以上に延びたとしても、生体分子の重心拡散が見えるだけなので、あまり有効でないかもしれないといった指摘があった（むしろ、100 ns までで統計精度が高い測定できる分光器の方が有効であるとも指摘していた）。タンパク質の内部運動に関する実験的な研究は端緒についたばかりであり、どの時間領域に重要なダイナミクスが存在しているかは明確でなくこの指摘自体はまだ議論の余地があるかもしれない。しかし、目指すサイエンスと装置スペックとの関係は非常に重要であり、次世代の中性子生物学はこの視点の上で検討することが必要であると強く認識した。

### ③ 計算機 simulation

計算機 simulation の重要性は解析においてますます重要になるという点では全員の共通認識であった。特に、上述の MD-BS の解析や MD-SANS、MD-NSE が今後解析を進めるうえで重要であると思われる。できることならば、日本発のソフトが現れることを期待したい。

### ④ 今後の在り方

外国の研究者から「Integrative Structural Biology」の重要性が強調された。そのために彼らの推奨するポイントは、「我々研究者が中性子分野の中にとどまらず外に向かって出ていくこと」と「それによる外部の生物学者の中性子への誘導」の重要性が指摘された。具体的には生物系の学会でのシンポジウムの開催や中性子で展開が可能なテーマの発見とそれらの中性子への勧誘である。今後より日本の中性子科学が発展していくために非常に重要な助言であると思われる。

## 7. Remarks for Future Outlook

いくつか繰り返しになる点もあるかと思われるが、各講演・質疑・Round-Table discussionを通して得られた知見をここにまとめる。

### 溶液構造解析

構造生物学は「解く」構造から「使う」構造へと変わりつつあり、構造生命科学といった新たな展開に進んでいる。また、クライオ電顕による単粒子解析によって、原子レベルに近い解像度で巨大分子複合体の立体構造が決定できるようになってきた。このような複合体などの立体構造を参照しつつ生理的条件下でその動態を解析する重要性がより一層増している。立体構造に基づく生体高分子の溶液動態の解析では SAXS がスタンダードな手法になっているが、多成分複合体の部分構造の解析や各成分の離合集散過程のダイナミクスを捉えるには重水素化とコントラスト変調を組み合わせた SANS は格好の手法であり、中性子でなければ見ることが難しい生命現象にアプローチできる。さらに、見るという視点では計算機 simulation による解析が重要であり、両者を合わせた“MD-SAXS” + “MD-SANS”などの測定・解析手法より得られる空間的・時間的に変化する蛋白質の階層構造と生理機能との関係性の知見は、構造から機能に結びつけるために欠かせない情報であり、次世代の蛋白質の構造研究に強く求められているものである。

### ダイナミクス解析

中性子非弾性散乱・準弾性散乱は、X線と比較して中性子の特徴が際立つ手法の一つである。生物物理学では、一分子計測などにより蛋白質の揺らぎの重要性が指摘されて久しいが、そのような熱揺らぎをピコ～ナノ秒の時間スケール、およびナノメートルの空間スケールで計測できる手法である。また水分子の非干渉性散乱が非常に大きいことを活用して、生体分子周りの水分子のダイナミクスを調べる事にも適している。生体分子の水和は理論的な研究が進んでいる一方で、実験的研究が遅れているため中性子の利用は有効である。しかし、非干渉性散乱で得られる情報は系全体の平均像としてのスペクトルのみである。構造科学的な視点からのより詳細な解析には、計算機など別の手法を組み合わせることで、データを解釈することも効果的である。また、凝集体などの立体構造の決定が難しい蛋白質の構造状態を、揺らぎの観点から解析するといった活用法も有効である。ガラス転移などの生体物質の熱物性が生命機能と関わるような研究対象については、熱物性に関わる揺らぎを成分毎に分けて解析することもできる。非干渉性散乱による THz 周波数領域のダイナミクス計測は、今後ますます重要になってくると考えられる。また、分子クラウディング効果の観点からの研究展開も可能性がある。一方で、規則的な折り畳み構造を持つ蛋白質についての構造生物学的な視点でのダイナミクス研究は、今後は干渉性準弾性散乱を観測できる NSE によるダイナミクス研究に取って代わっていくかもしれない。

### 次世代の中性子生物学の展望

様々な構造解析手法や分光学的手法が開発されている現代科学において、手法としての中性子の独自性、生物学の問題に対する中性子の優位性を利用することは、中性子利用の欠かせない視点である。また、他の手法との組み合わせでどれだけ中性子の強みを出せるかということも良く考える必要がある。大型施設を使う中性子は、他の多くの手法と比べても何か



と制約が大きくなるため、研究計画の中で適切に中性子の特性を活かした利用が求められる。中性子を使っていること自体が研究の“売り”になるのではなく、生命科学の多くの研究者が興味を持つような魅力的かつ本質的な研究テーマ設定が、より重要になってくると言えよう。言い換えれば、常に「Integrative Structural Biology」を意識し、X線構造解析、NMR、質量分析、分析超遠心、AFM、EM、計算機 simulation を統合的に織り交ぜて、なお、そこに埋没せず中性子の利点を生かした研究を展開していくことが重要である。今回の日本側の若手研究者の発表では、独自に試料調製を行い、また様々な研究手法を積極的に取り入れようとしている姿勢が顕著に見られた。日本での生命科学における中性子の活用法に関しては、彼らの努力によりある程度の方向性は見えてきていると思える。

Zaccai や Doster ら中性子生物学の黎明期を支え、長年にわたり主導的立場にあった研究者がリタイアし、現在、次世代の中性子生物学をどのように展開していくかは重要な岐路にある。欧州における中性子科学に対する投資規模や研究者層の厚さを考えると、日本ではそれと同じ土俵で勝負するよりも、独自の視点やアイデアを重視し、それを伸ばしコミュニティとして展開しやすい環境にすることが重要かもしれない。今後 ESS が立ち上がり、欧州連合による新たな中性子科学の展開に対して、日本においては、どのような方針で、個々の研究、特に若手研究者の斬新で多様なアイデアをエンカレッジしていくかは極めて重要である。特に、中性子コミュニティに閉じこもらない、生命科学に精通した研究者が育つ必要がある。言い換えると、他の様々な手法使える研究環境にある中で、それでもなお中性子に軸足を持って研究を進めるといふ人材が必要であると言える。

## 謝 辞

ワークショップに参加して下さった全ての皆様に感謝いたします。特に講演を快く引き受けて下さった方々には厚くお礼を申し上げます。本ワークショップは連動して直前に行われた分子科学研究所（岡崎市）でのシンポジウム「**Grand Challenges in Small-Angle Scattering**」が無ければ開催することは不可能でした。このシンポジウムの開催責任者である分子科学研究所教授の秋山修志先生に深く感謝いたします。開催にあたり多くの事務作業をして下さった J-PARC 関係者の皆様にお礼を申し上げます。

## 付 録

### 1. Preface

Every neutron researcher says, “*Neutron* is a powerful and special tool to investigate a material structure and dynamics.” However, we should deeply consider how powerful and how special as a research method for life science because there are several strong competitors, X-ray scattering and diffraction, NMR, native Mass spectroscopy, cryo-EM and so on. Honesty speaking, we need the answer about “Why do you use neutron for your life science?”

In this workshop, we would like to confirm the possibilities of neutron spectroscopies and find the next target fields in biology with neutron through the discussion with European and Japanese neutron scientists in the following points:

“What did we do up to now?”

“What can we do now?”

“What will we do in the future?”

AND

“What should we do for next generation from tomorrow?”

We very welcome everyone interesting of neutron biology to join this workshop.

Chair of organizing committee

Masaaki Sugiyama

### 2. Organizers

- Organizing committee

Rintaro Inoue (Kyoto University, Vice Chair)

Yukinobu Kawakita (J-PARC)

Hiroshi Nakagawa (JAEA, Vice Chair)

Nobuhiro Sato (Kyoto University)

Masaaki Sugiyama (Kyoto University, Chair)

Shin-ichi Takata (J-PARC)

- Advisor

Toshiji Kanaya (J-PARC)

Mamoru Sato (Yokohama City University)

### 3. Participants

参加者数 : 40 名

内訳 : 海外 2 名、国内 38 名



4. Program

## Neutron Biology for Next Generation

- *staring at future* -

March 22-23, 2017

J-PARC Research Building

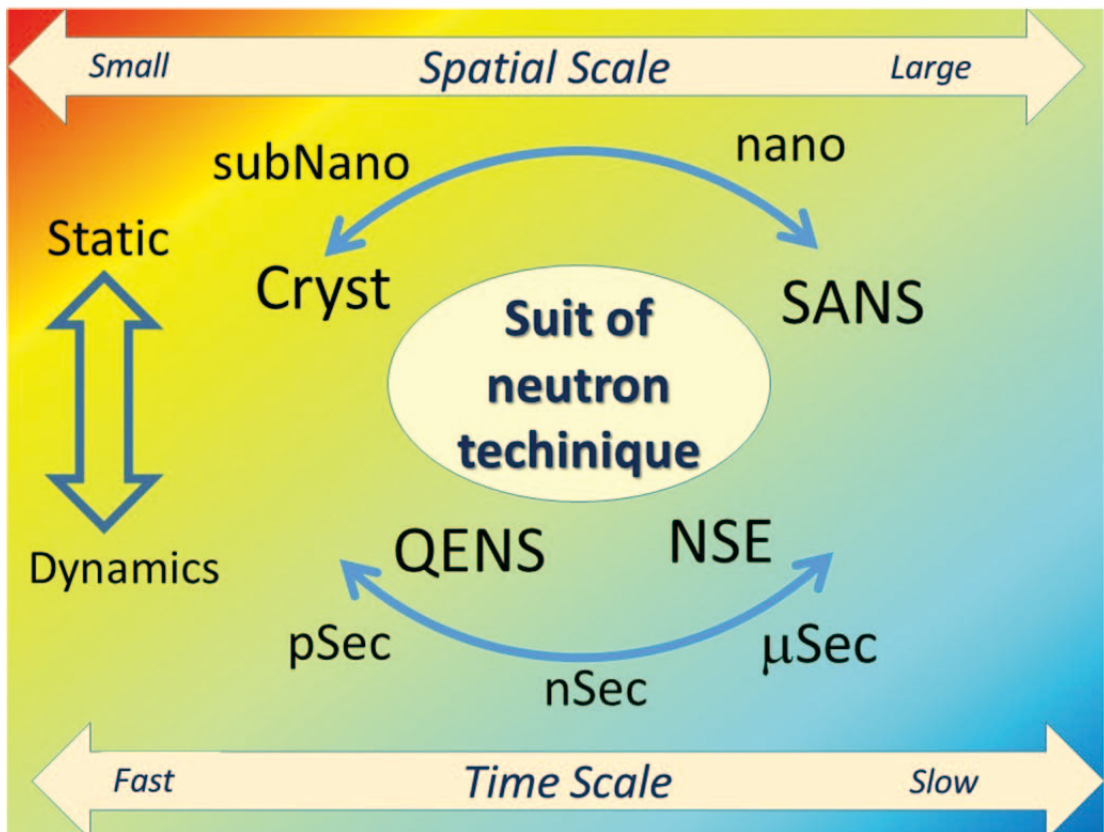
Day 1 (22 March 2017)			
9:00-9:10	Opening Remarks	Masaaki Sugiyama	KUR
Session 1: Japanese Instruments and Science for Neutron Biology			
9:10-9:35	Performance of TOF-SANS (TAIKAN) at J-PARC and its application to the study of life science	Shin-ichi Takata	J-PARC
9:35-10:00	Neutron protein crystallography in Japan	Taro Tamada	QST
10:00-10:25	The broadband micro-eV spectrometer DNA at J-PARC MLF and its research results in life science	Taiki Tominaga	CROSS
10:25-10:50	Status of Spin Echo Spectrometers "BL06 VIN ROSE" at J-PARC MLF	Hitoshi Endo	KEK
10:50-11:10	Coffee break		
Session 2: Neutron Biology in Europe I			
11:10-12:10	Neutrons for Protein Dynamics: Crowding, Domain Dynamics, Atomic Motions	Ralf Biehl	FZJ
12:10-13:30	Lunch		
Session 3: Neutron Biology in Japan			
13:30-13:55	Picosecond dynamics of proteins and hydration water studied by quasi-elastic neutron scattering	Tatsuhito Matsuo	QST
13:55-14:20	Inter-/Intra-dynamics of protein as studied by small-angle neutron scattering	Rintaro Inoue	KUR

14:20-14:45	Correlative dynamical analysis of bio-molecules — quasi-elastic neutron scattering and computational analysis	Hiroshi Nakagawa	JAEA
14:45-15:00	Coffee break		
Session 4: Neutron Biology in Europe II			
15:00-16:30	Future perspectives in biological small-angle neutron scattering: integrative structural approaches and tailor-made sample environment	Frank Gabel	IBS
16:20-16:40	Coffee break		
Session 5: Round discussion.			
16:40-17:30	“What should we do for neutron biology?”	All participants	Chaired by M.Sugiyama
18:30-20:00	Banquet		
Day 2 (23 March 2017)			
9:00-12:00	Site visit to J-PARC		
12:00-13:00	Lunch		
13:00-17:00	Free Discussion		
18:00-20:00	Dinner		

5. Materials in Round-Table Discussion

# Neutron Biology for *Next Generation*

“What did we do up to now?”  
“What can we do now?”  
“What will we do in the future?”  
AND  
*“What should we do for next generation?”*



## Status and Message from Instruments

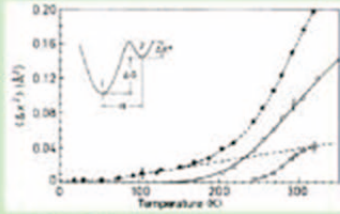
- SANS(TAIKAN)
  - Simultaneous measurement in wide Q-range
  - Feasible concentration: 1mg/mL @ 150kw(3hrs)
- Crystallography(BIX+iBIX)
  - (Future) feasible size=1mm<sup>3</sup> <1 week
  - Aimig to observe the structure with large lattice
- Back scatter (DNA)
  - Excellent S/N
  - Installing new Si mirror
- NSE (Vin-Rose)
  - IN construction of Two spectrometers
  - MIZE reaches several nsec
  - NRSE will reach 100 and several nsec.

## Scientific Targets in Now and Future

- Binding water (covered network?)
- Protein structure
  - Difference between in crystal and in solution
  - Structural change in interaction with the others for example, IDP(or IDR)
  - Partial structure in complicated complex
  - Multi-component system
- Protein dynamics
  - Unfolding chains:IDP (IDR)
  - Intra motion (domain-motion)
  - Association-dissociation dynamics and kinetics
- Crowding → in cell (mimic)

## Methodological considerations in Now and Future

### ➤ QENS



*Are there any new ideas to analyze QENS data?  
Especially for utilizing power of new generation spectrometer*

### ➤ NSE

*What resolution do we need for the observation of protein dynamics?*

### ➤ MD simulation

*How to couple with SANS, QENS, and NSE?*

### ➤ Deuteration

*What should we do?*

*How to use the deuterated samples?*

***What should we do for next generation?***

本レポートの内容に関してはオーガナイザーグループ（杉山、井上、中川）に責任があり、誤り等の指摘はオーガナイザーグループにご連絡願いたい。



# 国際単位系 (SI)

表1. SI 基本単位

基本量	SI 基本単位	
	名称	記号
長さ	メートル	m
質量	キログラム	kg
時間	秒	s
電流	アンペア	A
熱力学温度	ケルビン	K
物質량	モル	mol
光度	カンデラ	cd

表2. 基本単位を用いて表されるSI組立単位の例

組立量	SI 組立単位	
	名称	記号
面積	平方メートル	m <sup>2</sup>
体積	立方メートル	m <sup>3</sup>
速度	メートル毎秒	m/s
加速度	メートル毎秒毎秒	m/s <sup>2</sup>
波数	毎メートル	m <sup>-1</sup>
密度, 質量密度	キログラム毎立方メートル	kg/m <sup>3</sup>
面積密度	キログラム毎平方メートル	kg/m <sup>2</sup>
比体積	立方メートル毎キログラム	m <sup>3</sup> /kg
電流密度	アンペア毎平方メートル	A/m <sup>2</sup>
磁界の強さ	アンペア毎メートル	A/m
量濃度 <sup>(a)</sup> , 濃度	モル毎立方メートル	mol/m <sup>3</sup>
質量濃度	キログラム毎立方メートル	kg/m <sup>3</sup>
輝度	カンデラ毎平方メートル	cd/m <sup>2</sup>
屈折率 <sup>(b)</sup>	(数字の)	1
比透磁率 <sup>(b)</sup>	(数字の)	1

(a) 量濃度 (amount concentration) は臨床化学の分野では物質濃度 (substance concentration) ともよばれる。  
 (b) これらは無次元量あるいは次元1をもつ量であるが、そのことを表す単位記号である数字の1は通常は表記しない。

表3. 固有の名称と記号で表されるSI組立単位

組立量	SI 組立単位			
	名称	記号	他のSI単位による表し方	SI基本単位による表し方
平面角	ラジアン <sup>(b)</sup>	rad	1 <sup>(b)</sup>	m/m
立体角	ステラジアン <sup>(b)</sup>	sr <sup>(e)</sup>	1 <sup>(b)</sup>	m <sup>2</sup> /m <sup>2</sup>
周波数	ヘルツ <sup>(d)</sup>	Hz		s <sup>-1</sup>
力	ニュートン	N		m kg s <sup>-2</sup>
圧力, 応力	パスカル	Pa	N/m <sup>2</sup>	m <sup>-1</sup> kg s <sup>-2</sup>
エネルギー, 仕事, 熱量	ジュール	J	N m	m <sup>2</sup> kg s <sup>-2</sup>
仕事率, 工率, 放射束	ワット	W	J/s	m <sup>2</sup> kg s <sup>-3</sup>
電荷, 電気量	クーロン	C		s A
電位差 (電圧), 起電力	ボルト	V	W/A	m <sup>2</sup> kg s <sup>-3</sup> A <sup>-1</sup>
静電容量	ファラド	F	C/V	m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> s <sup>4</sup> A <sup>2</sup>
電気抵抗	オーム	Ω	V/A	m <sup>2</sup> kg s <sup>-3</sup> A <sup>-2</sup>
コンダクタンス	ジーメン	S	A/V	m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> s <sup>3</sup> A <sup>2</sup>
磁束	ウェーバ	Wb	Vs	m <sup>2</sup> kg s <sup>-2</sup> A <sup>-1</sup>
磁束密度	テスラ	T	Wb/m <sup>2</sup>	kg s <sup>-2</sup> A <sup>-1</sup>
インダクタンス	ヘンリー	H	Wb/A	m <sup>2</sup> kg s <sup>-2</sup> A <sup>-2</sup>
セルシウス温度	セルシウス度 <sup>(e)</sup>	°C		K
光照射量	ルーメン	lm	cd sr <sup>(e)</sup>	cd
放射線量	グレイ	Gy	J/kg	m <sup>2</sup> s <sup>-2</sup>
放射性核種の放射能 <sup>(f)</sup>	ベクレル <sup>(d)</sup>	Bq		s <sup>-1</sup>
吸収線量, 比エネルギー分与, カーマ	グレイ	Gy	J/kg	m <sup>2</sup> s <sup>-2</sup>
線量当量, 周辺線量当量, 方向性線量当量, 個人線量当量	シーベルト <sup>(g)</sup>	Sv	J/kg	m <sup>2</sup> s <sup>-2</sup>
酸素活性化	カタール	kat		s <sup>-1</sup> mol

(a) SI接頭語は固有の名称と記号を持つ組立単位と組み合わせても使用できる。しかし接頭語を付した単位はもはやコヒーレントではない。  
 (b) ラジアンとステラジアンは数字の1に対する単位の特別な名称で、量についての情報をつたえるために使われる。実際には、使用する時には記号rad及びsrが用いられるが、習慣として組立単位としての記号である数字の1は明示されない。  
 (c) 測光学ではステラジアンという名称と記号srを単位の表し方の中に、そのまま維持している。  
 (d) ヘルツは周期現象についてのみ、ベクレルは放射性核種の統計的過程についてのみ使用される。  
 (e) セルシウス度はケルビンの特別な名称で、セルシウス温度を表すために使用される。セルシウス度とケルビンの単位の大きさは同一である。したがって、温度差や温度間隔を表す数値はどちらの単位で表しても同じである。  
 (f) 放射性核種の放射能 (activity referred to a radionuclide) は、しばしば誤った用語で"radioactivity"と記される。  
 (g) 単位シーベルト (PV, 2002, 70, 205) についてはCIPM勧告2 (CI-2002) を参照。

表4. 単位の中に固有の名称と記号を含むSI組立単位の例

組立量	SI 組立単位		
	名称	記号	SI 基本単位による表し方
粘力のモーメント	パスカル秒	Pa s	m <sup>-1</sup> kg s <sup>-1</sup>
表面張力	ニュートンメートル	N m	m <sup>2</sup> kg s <sup>-2</sup>
角加速度	ラジアン毎秒	rad/s	m m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> = s <sup>-1</sup>
角加速度	ラジアン毎秒毎秒	rad/s <sup>2</sup>	m m <sup>-1</sup> s <sup>-2</sup> = s <sup>-2</sup>
熱流密度, 放射照度	ワット毎平方メートル	W/m <sup>2</sup>	kg s <sup>-3</sup>
熱容量, エントロピー	ジュール毎ケルビン	J/K	m <sup>2</sup> kg s <sup>-2</sup> K <sup>-1</sup>
比熱容量, 比エントロピー	ジュール毎キログラム毎ケルビン	J/(kg K)	m <sup>2</sup> s <sup>-2</sup> K <sup>-1</sup>
比エネルギー	ジュール毎キログラム	J/kg	m <sup>2</sup> s <sup>-2</sup>
熱伝導率	ワット毎メートル毎ケルビン	W/(m K)	m kg s <sup>-3</sup> K <sup>-1</sup>
体積エネルギー	ジュール毎立方メートル	J/m <sup>3</sup>	m <sup>-1</sup> kg s <sup>-2</sup>
電界の強さ	ボルト毎メートル	V/m	m kg s <sup>-3</sup> A <sup>-1</sup>
電荷密度	クーロン毎立方メートル	C/m <sup>3</sup>	m <sup>-3</sup> s A
電表面電荷	クーロン毎平方メートル	C/m <sup>2</sup>	m <sup>-2</sup> s A
電束密度, 電気変位	クーロン毎平方メートル	C/m <sup>2</sup>	m <sup>-2</sup> s A
誘電率	ファラド毎メートル	F/m	m <sup>3</sup> kg <sup>-1</sup> s <sup>4</sup> A <sup>2</sup>
透磁率	ヘンリー毎メートル	H/m	m kg s <sup>-2</sup> A <sup>-2</sup>
モルエネルギー	ジュール毎モル	J/mol	m <sup>2</sup> kg s <sup>-2</sup> mol <sup>-1</sup>
モルエントロピー, モル熱容量	ジュール毎モル毎ケルビン	J/(mol K)	m <sup>2</sup> kg s <sup>-2</sup> K <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>
照射線量 (X線及びγ線)	クーロン毎キログラム	C/kg	kg <sup>-1</sup> s A
吸収線量率	グレイ毎秒	Gy/s	m <sup>2</sup> s <sup>-3</sup>
放射線強度	ワット毎ステラジアン	W/sr	m <sup>4</sup> m <sup>-2</sup> kg s <sup>-3</sup> = m <sup>2</sup> kg s <sup>-3</sup>
放射輝度	ワット毎平方メートル毎ステラジアン	W/(m <sup>2</sup> sr)	m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup> kg s <sup>-3</sup> = kg s <sup>-3</sup>
酵素活性濃度	カタール毎立方メートル	kat/m <sup>3</sup>	m <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> mol

表5. SI 接頭語

乗数	名称	記号	乗数	名称	記号
10 <sup>24</sup>	ヨタ	Y	10 <sup>1</sup>	デシ	d
10 <sup>21</sup>	ゼタ	Z	10 <sup>2</sup>	センチ	c
10 <sup>18</sup>	エクサ	E	10 <sup>3</sup>	ミリ	m
10 <sup>15</sup>	ペタ	P	10 <sup>6</sup>	マイクロ	μ
10 <sup>12</sup>	テラ	T	10 <sup>9</sup>	ナノ	n
10 <sup>9</sup>	ギガ	G	10 <sup>12</sup>	ピコ	p
10 <sup>6</sup>	メガ	M	10 <sup>-15</sup>	フェムト	f
10 <sup>3</sup>	キロ	k	10 <sup>-18</sup>	アト	a
10 <sup>2</sup>	ヘクト	h	10 <sup>-21</sup>	ゼプト	z
10 <sup>1</sup>	デカ	da	10 <sup>-24</sup>	ヨクト	y

表6. SIに属さないが、SIと併用される単位

名称	記号	SI単位による値
分	min	1 min=60 s
時	h	1 h=60 min=3600 s
日	d	1 d=24 h=86 400 s
度	°	1°=(π/180) rad
分	'	1'=(1/60)°=(π/10 800) rad
秒	"	1"=(1/60)'=(π/648 000) rad
ヘクタール	ha	1 ha=1 hm <sup>2</sup> =10 <sup>4</sup> m <sup>2</sup>
リットル	L, l	1 L=1 l=1 dm <sup>3</sup> =10 <sup>3</sup> cm <sup>3</sup> =10 <sup>-3</sup> m <sup>3</sup>
トン	t	1 t=10 <sup>3</sup> kg

表7. SIに属さないが、SIと併用される単位で、SI単位で表される数値が実験的に得られるもの

名称	記号	SI単位で表される数値
電子ボルト	eV	1 eV=1.602 176 53(14)×10 <sup>-19</sup> J
ダルトン	Da	1 Da=1.660 538 86(28)×10 <sup>-27</sup> kg
統一原子質量単位	u	1 u=1 Da
天文単位	ua	1 ua=1.495 978 706 91(6)×10 <sup>11</sup> m

表8. SIに属さないが、SIと併用されるその他の単位

名称	記号	SI単位で表される数値
バール	bar	1 bar=0.1MPa=100 kPa=10 <sup>5</sup> Pa
水銀柱ミリメートル	mmHg	1 mmHg=133.322Pa
オングストローム	Å	1 Å=0.1nm=100pm=10 <sup>-10</sup> m
海里	M	1 M=1852m
バイン	b	1 b=100fm <sup>2</sup> =(10 <sup>12</sup> cm <sup>2</sup> ) <sup>2</sup> =10 <sup>-28</sup> m <sup>2</sup>
ノット	kn	1 kn=(1852/3600)m/s
ネーパ	Np	SI単位との数値的關係は、 対数量の定義に依存。
ベレル	B	
デシベル	dB	

表9. 固有の名称をもつCGS組立単位

名称	記号	SI単位で表される数値
エルグ	erg	1 erg=10 <sup>-7</sup> J
ダイン	dyn	1 dyn=10 <sup>-5</sup> N
ポアズ	P	1 P=1 dyn s cm <sup>-2</sup> =0.1Pa s
ストークス	St	1 St=1cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> =10 <sup>-4</sup> m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>
スチルブ	sb	1 sb=1cd cm <sup>-2</sup> =10 <sup>4</sup> cd m <sup>-2</sup>
フオト	ph	1 ph=1cd sr cm <sup>-2</sup> =10 <sup>4</sup> lx
ガリ	Gal	1 Gal=1cm s <sup>-2</sup> =10 <sup>-2</sup> ms <sup>-2</sup>
マクスウェル	Mx	1 Mx=1 G cm <sup>2</sup> =10 <sup>-8</sup> Wb
ガウス	G	1 G=1Mx cm <sup>-2</sup> =10 <sup>-4</sup> T
エルステッド <sup>(a)</sup>	Oe	1 Oe <sub>e</sub> =(10 <sup>3</sup> /4π)A m <sup>-1</sup>

(a) 3元系のCGS単位系とSIでは直接比較できないため、等号「△」は対応關係を示すものである。

表10. SIに属さないその他の単位の例

名称	記号	SI単位で表される数値
キュリー	Ci	1 Ci=3.7×10 <sup>10</sup> Bq
レントゲン	R	1 R=2.58×10 <sup>-4</sup> C/kg
ラド	rad	1 rad=1cGy=10 <sup>-2</sup> Gy
レム	rem	1 rem=1 cSv=10 <sup>-2</sup> Sv
ガンマ	γ	1 γ=1 nT=10 <sup>-9</sup> T
フェルミ	f	1 フェルミ=1 fm=10 <sup>-15</sup> m
メートル系カラット		1 メートル系カラット=0.2 g=2×10 <sup>-4</sup> kg
トル	Torr	1 Torr=(101 325/760) Pa
標準大気圧	atm	1 atm=101 325 Pa
カロリ	cal	1 cal=4.1858J (「15°C」カロリ), 4.1868J (「IT」カロリ), 4.184J (「熱化学」カロリ)
マイクロン	μ	1 μ=1μm=10 <sup>-6</sup> m



