

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名：多量子遷移 ESR による巨大分子の構造解析

2. 研究代表者：下山 雄平（室蘭工業大学教育研究支援機構 教授）

3. 研究概要

構造解析の主要手段である X 線構造解析 (XRD) は目標物質の結晶化が必須である。巨大分子 (特にたんぱく質) は結晶化できないものが数多く存在するので、アモルファス状態でも構造情報がえられる手法が開発されると、研究の一段の進歩に資する。また、この方法により高分子・ガラス・セラミックスなど無秩序構造をとるナノデバイスとしての豊富な機能解析にも役立てることができる。核磁気共鳴法 (NMR) は無秩序状態での構造解析が可能であるが、その距離情報は 5\AA の核スピン間距離に制約される。電子スピン共鳴法 (ESR) は不対電子 (スピン) を選択的に検出する機器であるが、常磁性分子種を含む材料においては、結晶、非晶質、液体状態に関わらず構造解析が可能である。しかもその距離情報は通常の ESR (CW-ESR) では $10\sim 15\text{\AA}$ まで長距離になり、さらにパルス ESR を用いると、理論限界は $80\sim 90\text{\AA}$ と言われている。本研究は、そのような特徴を有するパルス ESR 分光法を使用して、多量子遷移を誘起し、スピン間の双極子相互作用の応答を観測して距離情報を得るのが目的である。ガラスやセラミックスの格子欠陥も対象となるが、本研究では特に巨大分子 (たんぱく質) をターゲットとしている。そのためには巨大分子をスピンラベルする必要があるため、その手法の開発を目指すとともに、ラベル化したたんぱく質の機能を構造解析情報に基づいて解明しようとしている。この応用研究では距離情報として 20\AA 程度から出発し、その距離を順次長くして、検出限界距離を探ることも大きな目標である。

4. 中間報告結果

4-1. 研究の進捗状況及び研究成果の現状

当初の全体計画では、①多量子遷移 (MQC) 電子スピン共鳴 (ESR) 測定に関する基礎研究と装置開発 (下山グループ・北海道教育大学、H17.4 室蘭工業大学へ異動)、②マイクロ波回路の機器開発 (大庭グループ・東北大学)、③共振器の設計 (小野グループ・山形大学)、④バイラベルによる計測手法の開発 (荒田グループ・大阪大学)、⑤ESR と NMR データの比較検討 (山崎グループ・理化学研究所)、⑥新規スピンラベル法の開発 (西井グループ・東洋紡績 (株)) という体制に加えて、ロシア科学アカデミー化学反応研究所 (Dzuba グループ) との共同研究を行う予定でスタートした。しかし研究進捗報告会やサイトビジットによる進捗状況の確認において、5 年間という研究期間である一定の成果を上げるためには、MQC-ESR 装置開発により重心を置いた研究体制にする必要があること、および ESR の使用マイクロ波周波数として Ku バンド (17.5GHz) と Q バンド (35GHz) の 2 種類を両方進めていくことは技術的・時間的に困難であることなどの見通しが立った。

そこで 2 年度目からは、MQC-ESR 装置開発を重心に置くため、パルスマイクロ波回路および計測器連携制御ソフトの開発を分担する水田グループ (日本電子 (株)) をチーム体制に加え、さらに装置開発は予算の効率化を考え大庭グループにて集中的に行うこととした。また合わせて、ESR の使用マイクロ波周波数は Ku バンド (17.5GHz) に特化して開発を行うこととし、その性能として 1) 3ns パルス幅、2) マイクロ波磁場 $B_1 > 4\text{mT}$ 、3) 帯域 $> \pm 120\text{MHz}$ 、4) 位相サイクルの精度の改良 を目標とすることとした。さらに、水田グループは高速データ処理に関する開発を担当し、装置の性能を X バンドパルス ESR より格段に進展させることにした。

上記計画に従った研究進捗状況については、現段階での目標は全てほぼ完了していることから、全般的に良好である。具体的な成果としては、X-バンド (9GHz) との感度比較において S/N 比 5.3 に達し、高速化により積算所要時間の半減となったこと、多量子遷移のうち 2 量子遷移 (DQC) 法の結果では、 27.5\AA の試料について変調振幅と距離誤差の改良が達成され、もう 1 つの距離測定である 2 重共鳴 (PELDOR あるいは DEER) より

も精度がよいことを示すことができた。また応用研究では、トロポニン C での成果を発表できるところまでに至り、また試料による緩和時間の問題もあって少し精度は悪いが、ATPase では 56 Å の距離観測を記録した。Ku バンドで 50 Å のスピン相関を検出ことは科学的・技術的にもインパクトのある成果である。

以上を総合すると、当初の Q バンドを含めた研究計画を途中で Ku バンド装置開発に特化したという点からすると、当初計画された研究成果は達成できていないものの、Ku バンド多量子遷移パルス ESR 装置の開発は順調に進展しており、応用研究での成果も上がりつつあるため、変更後の計画に対しては順調に成果が得られていると判断される。

なお研究実施体制について付言すると、各要素技術を持った複数の研究グループが一つの装置開発を目指すような研究課題においては、研究代表者を中心としたグループ間の密接な連携体制の構築が重要となるが、この点において本研究チームはやや不足が見られた。

4-2. 今後の研究に向けて

今後の短期的な課題としては、50~60 Å のデータの確実性の獲得と、さらに長い距離への挑戦を挙げたい。加えて、スロットアレイ共振器の Ku バンド装置への組み込みを早急に完成させることを期待したい。これらは、今の段階で到達している Ku バンドパルス ESR 装置を基本とした新しい共振器の融合と応用研究試料の調整を工夫することで可能であり、時間的には多くを要しないと考えられる。これらにより、Ku バンド-ESR 装置開発に関してはある一定の水準において完成と言える状況に達すると言えよう。また中長期的には、完成した Ku バンドの装置を利用して、巨大分子の構造解析を対象とする応用研究が進められることが期待される。

なお、当初計画で予定していた Q バンド(35GHz)MQC 装置の開発に関しては、周波数が高くなることで共振器を含む分光器全般にわたってより工夫が必要であり、当初予定した研究期間で当初計画した研究成果を得ることは困難であると判断される。

4-3. 総合評価

本研究は、現段階で Ku バンド-ESR-DQC 装置開発に関しては完成の見通しが立っており、この点に関する研究計画はほぼ達成されたと言える。また本装置は実用性が期待できるため、将来的には多くのサンプルを測定して、巨大分子への応用研究あるいは先端機能性材料への展開を図り、開発装置の有用性を高めていくことが期待される。

一方、当初計画で予定していた Q バンド(35GHz)MQC 装置の開発に関しては、今後の残された研究期間で当初計画した研究成果を得ることは困難であると判断されるため、本研究課題としては今後の着手を見送ることが妥当である。

したがって、本研究課題は Ku バンド-ESR-DQC 装置の完成が達成された時点をもって終了することが妥当と判断される。