

「物質現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」  
平成 16 年度採択研究代表者

下山 雄平

(室蘭工業大学大学院工学研究科 教授)

## 「多量子遷移 ESR による巨大分子の構造解析」

### 1. 研究実施の概要

本研究は多量子遷移 ESR を開発し、これを応用した巨大分子の構造解析にねらいがある。これまで装置開発では Ku-バンドパルス ESR の組み上げを行なった。今後は多量子測定のために必要な部品の高性能化と目的性能の評価・改善を行っていく。

装置開発は、マイクロ波ブリッジ、パルス列発生器、TWTA、標準空洞共振器、電磁石、データ取得用オシロスコープ、コンピュータシステムの設計・組み上げを目標とした。現在、Ku-バンドパルス ESR 装置の組み上げと、チューニングをおこなっている。予備実験装置を使い、先ずスピンエコー信号、ついで DQC 信号と考えられるものの観測に成功した。

一方、装置完成後の応用研究の準備として、新規のバイラベル合成法を確立し、モーター（運動）タンパク質の解析を目指しラベルタンパク試料の開発を行った。

### 2. 研究実施内容

[研究目的] 多量子遷移 ESR の開発と本装置による巨大分子の構造解析研究

[研究方法] 1) 多量子遷移 ESR 装置開発の為のパルス ESR 機器設計とその組上げ

および 2) 本手法によるラベルしたタンパク質や高分子の構造解析研究である。

[結果] 装置開発は Ku-band ESR 装置の設計を完了し、現在組上げとチューニングを行っている。この間、予備実験装置の使用による測定を行い、先ずスピンエコー信号 (Fig. 1) ついで DQC 信号 (Fig. 2) と考えられるものの観測に成功した。

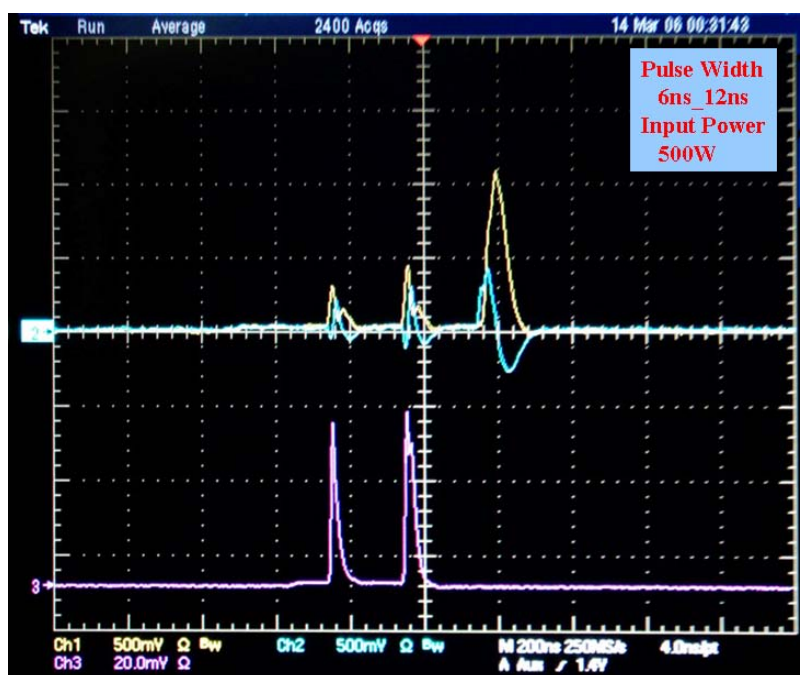


Fig. 1  $90^\circ$  (6ns)- $180^\circ$  (12ns) パルス系列照射による K-バンドスピンエコー (室温、磁場 : 653mT)

今後、更なる機器の安定性を目指した開発研究が必要であり、特に、信号積算操作などのソフトウェアの開発には特段の力の傾注が課題である。装置完成後の応用研究の準備として、標準物質となる新規のバイラベル合成法を構築し、モーター・タンパク質やプリオン・タンパク質の解析を目指しラベル試料の開発に成功した (Fig. 3)。

[全体計画に対する進捗状況]

全体計画では Ku-band 及び Q-band ESR の装置開発を目指してきたが、Ku-band の ESR 装置開発に特化した計画を実施し、以下のような成果を収めることができた。

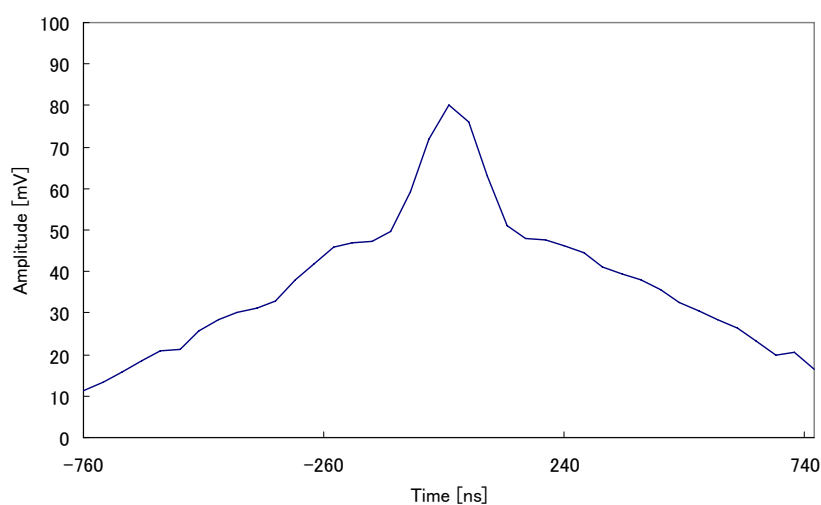


Fig. 2  $\gamma$  線照射石英砂の多量子遷移 ESR 信号

- 1) Ku-band の ESR 装置に用いる磁場装置、TWTA、データ取得用オシロスコープ、コンピュータシステムの設置を行った。そしてマイクロ波ブリッジ回路とパルス列発生器を結合しパルス化を行った。
- 2) この先行装置でエコー信号の測定に成功を収めた。(Fig. 1)
- 3) 新規の共振器 (SAR) (特許出願中) の開発に成功し、負荷を低減した状態でのマイクロ波磁場の集中化に成功した。
- 4) この SAR 共振器を用いたパルス ESR 実験を行い、チャンピオンデータであるが石英砂の E' 中心の 2 量子遷移 (DQC) と考えられる信号が得られた。(Fig. 2)

一方、応用研究としては、1) 異なる同位体を含むバイラベルの新規合成法を開発した。これによってニトロオキシド基の窒素核や酸素核、重水素核の同位体可変物質の合成原理を確立した。(特許申請中) 2) モーター運動タンパク質の構造・機能解析を目指しラベルしたタンパク試料を開発した。代表的な同位体バイラベルを示す。(Fig. 3)

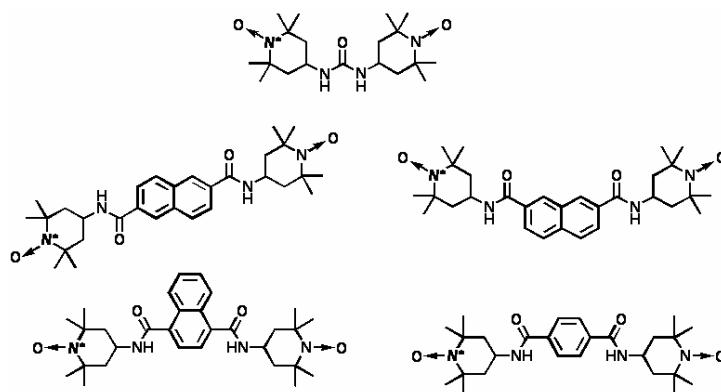


Fig. 3 異なる同位体 ( $^{14}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) を含むニトロオキシド・バイラジカル

### 3. 研究実施体制

#### 「下山」グループ

- ① 研究分担グループ長：下山 雄平（室蘭工業大学、教授）
- ② 研究項目：チーム全体の研究総括と機能評価

#### 「大庭」グループ

- ① 研究分担グループ長：大庭 裕範（東北大学、助教授）
- ② 研究項目：Ku バンドマイクロ波回路の最適化と解析ソフトの構築

#### 「小野」グループ

- ① 研究分担グループ長：小野 光弘（山形大学、特任教授）
- ② 研究項目：Ku バンド共振器および結合器の最適設計と開発

「水田」グループ

- ① 研究分担グループ長：水田 幸男（日本電子、副主幹研究員）
- ② 研究項目：高速AD変換装置の開発と、パルス発生器やAD変換装置を連携制御するソフトウェアの開発

「中村」グループ

- ① 研究分担グループ長：中村 秀夫（北海道教育大学、助教授）
- ② 研究項目：装置性能評価を目的として標準物質の合成

「荒田」グループ

- ① 研究分担グループ長：荒田 敏昭（大阪大学、助教授）
- ② 研究項目：バイラベルによる計測手法の開発によるタンパク質の機能と構造の解析

「山崎」グループ

- ① 研究分担グループ長：山崎 俊夫（理化学研究所、チームリーダー）
- ② 研究項目：タンパク質試料の調製、NMR-ESR 統合的構造解析法

「D z u b a」グループ

- ① 研究分担グループ長：D z u b a（ロシア科学アカデミー反応化学研究所、所長）
- ② 研究項目：Ku バンド TWTA（出力 2 k W）の設計と製作

#### 4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文（原著論文）発表

- ESR Detection of Wheat Flour before and after Irradiation, Y. Shimoyama, H. Nakamura, M. Ukai, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **63**(4), 888-890, 2006.
- Free Radicals in Irradiated Wheat Flour Detected by Electron Spin Resonance, M. Ukai, Y. Shimoyama, *Applied Magnetic Resonance*, **29**, 1-10 (2005).
- An ESR Protocol Based on Relaxation Phenomena of Irradiated Japanese Pepper, M. Ukai, H. Nakamura, Y. Shimoyama, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **63**(4), 879-882, 2006.
- An Electron Spin Resonance Study of  $\gamma$ -ray Irradiated Ginseng, H. Nakamura, M. Ukai, Y. Shimoyama, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **63**(4), 883-887, 2006.
- Conformational change in full-length mouse prion: A site-directed spin-labeling

study, Osamu Inanami, Shukichi Hashida, Daisuke Iizuka, Motohiro Horiuchi, Wakako Hiraoka, Yuhei Shimoyama, Hideo Nakamura, Fuyuhiko Inagaki and Mikiinori Kuwabara, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **335**(3), 785-792 (2005)

- Calcium-dependent movement of troponin I between troponin C and actin as revealed by spin-labeling EPR. T. Aihara, S Ueki, M. Nakamura, and T. Arata, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **340**, 462-458 (2006).

(2) 特許出願

平成 17 年度特許出願件数：1 件（CREST 研究期間累積件数：1 件）