

●生命科学

タンパク質結晶構造解析

カルシウムポンプタンパク質によるイオンの運搬機構

ナトリウムやカルシウム等のイオンの濃度は細胞の内外で大きく異なり、信号の伝達等に使われます。イオンの濃度差を作り出しているのは、イオンポンプと呼ばれるタンパク質群であり、生体膜を貫通して存在する膜タンパク質の一種です。イオンの輸送のためにATPの化学エネルギーを使うATP分解酵素でもあります。図1に示した筋小胞体カルシウムポンプは、筋収縮のために筋細胞中に放出されたカルシウムを筋小胞体中に再び取り込み、筋肉を弛緩させる働きがあります。カルシウムは生体反応の制御に最も広く使われるイオンであり、カルシウムポンプは心筋梗塞やがん、感染症の治療の点からも注目されています。そのイオン輸送サイクルは4つの基本的状態からなり、細胞質側と内腔側と二つあるゲートを正しいタイミングで開閉することによって、イオンを運搬していると考えられていますが、この4つの状態すべての立体構造をSPRING-8を用いたX線結晶解析によって決定しました(図1)。この結果、イオン輸送に当たっては、非常に大きな構造変化が起こること、特に重要なのはドメインAで、その位置と向きを制御することによってゲートを開閉していること、そのためにATPや燐酸、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} が使われていることが分かりました。これによって、ATPの加水分解に伴う化学反応が、ゲートを遠隔制御して開閉する機構が明らかになりました。濃度勾配に逆らったイオンの輸送(能動輸送)は、生命活動を支える基本的なプロセスの一つですが、そのなぞが本研究によって解明されました。

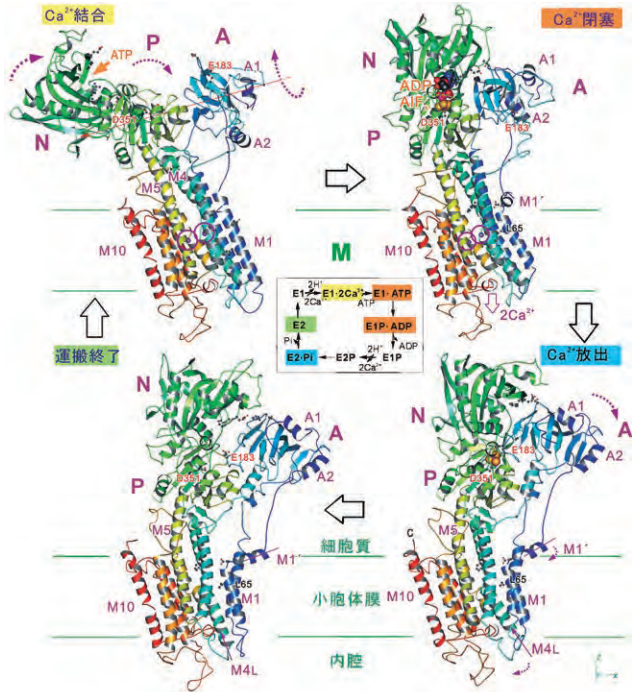


図1. カルシウムポンプの4つの基本状態の構造。カルシウムポンプは10本の膜貫通ヘリックス(M1-M10)と3つの細胞質ドメイン(A,N,P)を持つ分子量11万の膜タンパク質である。膜内に結合した Ca^{2+} は紫色の円で囲ってある。

BL41XU 東京大学 豊島 近

●生命科学

タンパク質溶液散乱

カルシウム結合によるカルモデュリン分子の構造変化

カルモデュリンは、ほぼすべての真核生物の細胞に発現している分子量17,000の小さなタンパク質で、細胞内情報伝達を行っています。細胞外からの刺激によって細胞内のカルシウム濃度が上昇すると、カルモデュリンはカルシウムを結合し、カルシウムを結合したカルモデュリンは酵素など他のタンパク質と結合することによって、細胞に様々な変化を引き起こします。カルシウム結合時にカルモデュリンは形を変えて他のタンパク質と結合できるようになります。X線結晶構造解析から、カルシウムが無い時のカルモデュリンは伸びた形をしており、カルシウムを結合すると丸くなることが知られていましたが、この変化はミリ秒という短い時間で起こるため、その詳細は不明でした。本研究では、この構造変化の過程をBL40XUの強力なアンジュレータX線を用いた小角散乱測定で明らかにしました。

カルモデュリン分子を溶液中に分散し、レーザー照射によってカルシウムを放出するキレート剤を用いてカルシウム濃度を急激に上昇させると、カルモデュリンの慣性半径(分子の大きさの目安)は10ミリ秒程度の間に25%ほど減少しました(図1)。これは、カルモデュリンがカルシウムを結合して、よりコンパクトになったことを示します。このとき溶液に結合相手となるペプチドと一緒に入れておくと、この小さな形は安定化され、そのまま保存されます(図1 白)。しかし、結合相手が無いと、カルモデュリンは150ミリ秒ほどでもとの伸びた形に戻りました(図1 黒)。

カルシウム結合直後のコンパクトな構造の存在(図2)は、これまで知られていませんでした。この構造はカルモデュリンが他のタンパク質に結合してカルシウム信号を伝える際にもっとも重要な状態であり、細胞機能の解明だけでなく、これを標的としたカルモデュリン結合薬などの開発も考えられます。

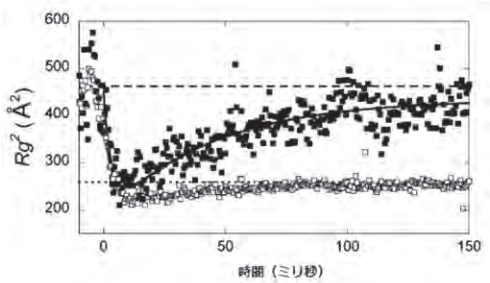


図1. 時間0にカルシウム濃度を上昇させた時の、カルモデュリンの慣性半径(Rg)の変化。

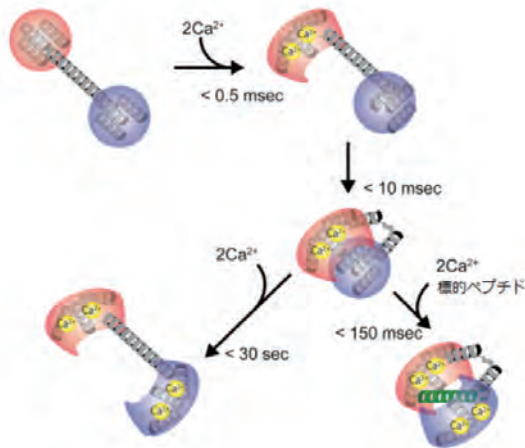


図2. カルシウム結合に伴うカルモデュリンの構造変化

BL40XU JASRI 山田 好輝、岩本 裕之、八木 直人

●物質科学

X線CT+X線回折(CT+XRD)

次世代自動車用鋼板の外力による内部組織の変化を直接観察—複合X線CT解析技術の開発—

次世代自動車用鋼板として用いられ始めているTRIP鋼は、外力が加わると金属組織の構造が変化する「相変態」というユニークな特徴を持っています。これは、フェライトに残留オーステナイトと呼ばれる準安定相を数十%分散させたもので、外力がかかると軟質な残留オーステナイトが硬いマルテンサイトに変態するものです。しかしながら、この相変態は、研磨や切削でも容易に起こってしまうことから、TRIP鋼の相変態の様子を観察・解析するには非破壊で行うことが必須となります。非破壊でTRIP鋼の相変態挙動を直接可視化できるX線ナノモグラフィー技術と結晶方位や転位密度を測定可能なペンシルビーム回折トモグラフィーを組み合わせたマルチモーダル解析技術を開発しました。X線ナノモグラフィー技術の空間分解能は0.16マイクロメートル、ペンシルビーム回折トモグラフィーに用いるX線ビーム径は3マイクロメートルであり、非常に微細な材料組織の観察・解析が可能です。図1は実験セットアップの模式図です。これら手法の切替に要する時間は2-3分であり、ボタン一つで簡単に切替可能となっています。本研究では、外部負荷中の鋼材のその場観察に本技術を初めて適用し、その結果、個々のオーステナイト粒の相変態、変形、回転挙動を3次元的に明瞭に観察することができました。図2は結晶粒方位を決定できたある結晶粒の変態挙動を追跡した結果です。これまでは鋼材の比較的広い領域の平均的な情報しか得られないために、最適なミクロ組織の設計指針を得ることは不可能でしたが、本研究により、個々の残留オーステナイト間の相互作用が直接可視化され、ミクロ組織設計の明瞭な指針が得られました。

マルチモーダル解析の適用により、局所的な相変態現象に直接計測の光が当たれば、衝撃吸収特性や破壊特性の真の理解が得られ、その最適化のためのミクロ組織設計も可能になります。

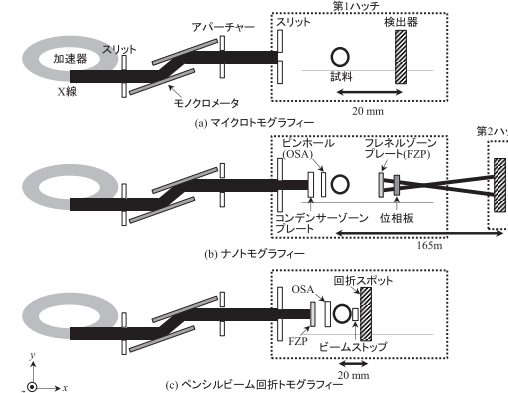


図1. X線トモグラフィー技術とペンシルビーム回折トモグラフィーを組み合わせたマルチモーダル解析技術の模式図

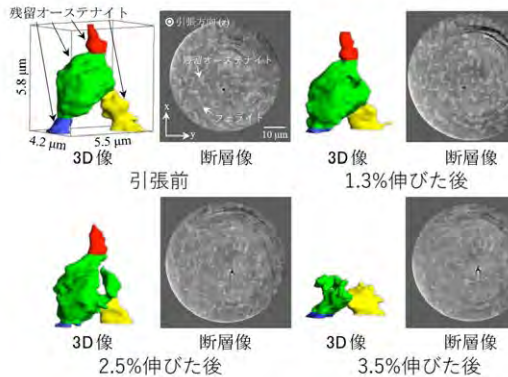


図2. 個々の残留オーステナイトの相変態挙動。同時に同じ負荷段階のある断層像における変態の様子も示している。残留オーステナイトは、一様に変態するのではなく、局所的に変態してる。

BL20XU 京都大学 平山 恭介、九州大学 戸田 裕之

●物質科学

SACLAのフェムト秒時分割X線回折

鉄鋼材料の超急速加熱過程での転位の瞬間的な動きの観測に成功

鉄鋼製造プロセスにおいて、熱処理での加熱、冷却の速度は、鉄鋼材料の性質を決める極めて重要なパラメータです。しかしながら、速い温度変化での原子拡散や組織変化は、その観察の難しさから、物理的、速度論的な理解が進んでいませんでした。特に、高品質化を志向する製造法の開発にあたっては、マルテンサイトからオーステナイトに変化(相変態)する微視的過程における転位(結晶欠陥)の動きを理解し、精密に制御することが極めて重要です。極限的な温度上昇によって生じる超高速な組織変化は未知の領域でした。この変化の観察は、鉄鋼材料の高性能化・高品質化に繋がる重要な知見を与えます。しかしながら、これまで1秒間で数℃の加熱速度における転位の動きは観測できましたが、原子の拡散が速い高温では微視的かつ高速の変化を観測することが難しく、マルテンサイトからのオーステナイト形成での転位の動きは明確ではありませんでした。

本研究では、世界最先端のX線自由電子レーザー施設SACLAに独自設計した超急速加熱・冷却システムを設置して、1秒間で1万度を超える加熱速度によるマルテンサイトの組織変化をフェムト秒X線回折で観測し、鉄鋼材料のマルテンサイト組織の超急速加熱過程における転位の瞬間的な動きの定量的な観測に、世界で初めて成功しました(図1)。そして転位密度や炭素濃度の観点から、ミクロ組織形成過程を解明しました(図2)。鉄鋼材料の組織形成に関わる転位と炭素濃度のその場観測により、鉄鋼材料の高性能化・高品質化、新合金または製造プロセスの開発等、今後大きな展開が予想されます。

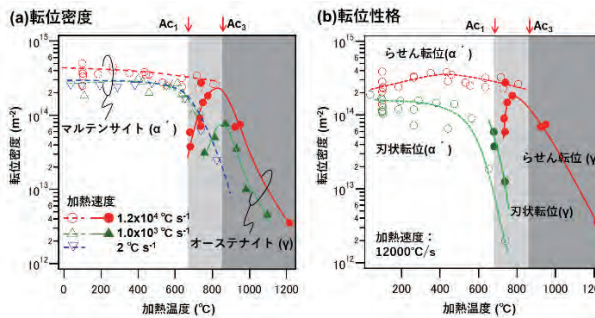


図1. 加熱過程の転位密度と転位性格の変化

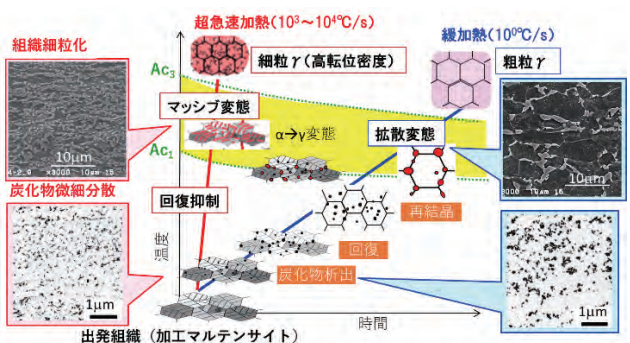


図2. 超急速加熱過程の組織変化のプロセス

SACLA BL3 日本製鉄(株) 米村 光治
論文: M. Yonemura et al., Scientific Reports 9, 11241 (2019).