

# 第4回日本放射光学会若手ワークショップ 「次世代放射光源を用いた生命科学未踏領域への挑戦」報告

ワークショップ組織委員会，日本放射光学会行事委員会

**要旨** 2007年8月6-7日の2日間にわたり，兵庫県播磨科学公園都市・SPring-8 キャンパス内の放射光普及棟大講堂において，第4回日本放射光学会若手ワークショップ—次世代放射光源を用いた生命科学未踏領域への挑戦—が開催された。このワークショップでは，放射光利用研究の中から「生命科学」分野に焦点をあて，近未来に展開されるであろうサイエンスについて講演と議論が行われた。

## 1. はじめに

### 1.1 ワークショップの目的

日本放射光学会若手ワークショップ (WS) は，放射光コミュニティの若手研究者が中心となって，放射光科学の将来像について議論する場として設けられ，毎年テーマを絞って開催されてきた。2004年に開催された第1回は，「若手を中心としたワークショップ—今後30年の未来像—」と題し，30年後の未来予測をしながら，放射光科学の位置づけや放射光利用のあり方が議論された。2005年には，究極の次世代放射光源である X 線自由電子レーザー (X-ray Free Electron Laser: XFEL) が国家基幹技術のひとつに指定された。これを受けて，第2回 WS「次世代光源計画ワークショップ—未来光源が開くサイエンス—」においては，XFEL とこれまでに培われたリング型光源技術をさらに発展させたエネルギー回収型ライナック (Energy Recovery Linac: ERL) などの次世代放射光源によって10年後に可能になるサイエンスについて議論がなされた。昨年開催された第3回 WS「次世代光源計画ワークショップ—先端的リング型光源が開くサイエンス—」では，ERL に焦点をあてた議論が展開された。今年の第4回 WS では，前年までの光源を主題とした形態から，利用研究に軸足を移すこととなり，現在の放射光利用研究の一つの柱であり次世代放射光源においてもその飛躍が期待されている生命科学の現状と近未来像を議論することとなった。

生命科学は21世紀における重要な学問分野の一つと言われている。生命とは何かというあくなき疑問に答えるべく，様々な視点から研究がなされているが，ヒトゲノム解析が完了した現在，生命機能を解明するポストゲノム研究へと焦点が移行し始めており，放射光利用研究が活性化している分野である。核酸やタンパク質などの生体高分子の複雑な，しかし，合理的な立体構造と機能を解析し，生命科学における分子論的基盤の確立することを目的とした研究では，放射光は必要不可欠なツールとして広く認知され

ているところである。今後，生命科学における放射光利用研究は，現在の分子論的基盤を礎として，多数の生体高分子が集合して機能する生体超分子複合体，細胞小器官 (オルガネラ)，細胞さらには生命個体など，複雑かつ精緻に構築・構成された生命の階層システムにおける相互作用やそのダイナミックスの解明を通じた，生命の本質を理解することに貢献するものと期待されている。このため，イメージングに適した XFEL や ERL といった第四世代放射光の利用研究にむけて，細胞や生体高分子レベルでの直接構造観察やダイナミックス研究を可能にする新規実験手法の開発が開始されたところである。

このような状況を踏まえて，近い将来，従来とは光の性質が根本的に異なる第四世代光源を用いた研究や，高度化される第三世代光源を用いた研究において，放射光を用いた生命科学が今後どのように展開されて行くのか，またどのような困難が予測されるのかなどを議論することは時宜をえたものであると考えられた。また，本 WS では，生命科学の現状を認識しながら放射光科学の将来を占うため，放射光科学研究者に限定することなく，様々な生命科学の研究者を招いて議論の場を設けることとした。

### 1.2 プログラムの選定

本ワークショップを実施するにあたっては，2007年1月の第20回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウムでの行事委員会において，行事委員会が主体となって若手 WS を実施することが確認された。また，第4回 WS からは，前年度までの次世代光源を主題とする企画から，特定の研究分野に焦点をあてて放射光利用科学の現状と近未来像を議論する形態に移行することとされ，今年度は「生命科学」をキーワードに企画を進めることとなった。4月の第74回評議委員会においては，利用研究の中から「生命科学」分野を主題とした WS 開催が承認された。これを受けて，行事委員に放射光学会の生命科学分野研究者を加えた WS 組織委員会が発足し，WS の目的，プログラム構成および内容などについて，実質的な議論が始まっ

表1 プログラム

8月6日(月)	
セッション1. 生命科学の現状と将来展望	
1-1. 光学顕微鏡による生体分子・細胞生物学研究のこれまでと将来展望	横田浩章 (東京都臨床医学総合研究所)
1-2. 電子顕微鏡イメージング法の現状と未来	岩崎憲治 (阪大・蛋白研)
1-3. 相補的な手法による超分子複合体の構造解析: 現状と将来	今田勝巳 (阪大・生命機能)
セッション2. 新たな光源と今後の展開が期待される萌芽的計測の現状	
2-1. 次世代光源 XFEL・ERL がもたらす光	田中 均 (理研・播磨)
2-2. 離合集散する蛋白質複合体のダイナミクス—X線小角散乱による計測—	鶴田博嗣 (SSRL)
2-3. X線プローブを用いた細胞内元素分布測定—臨床研究のための基礎研究—	志村まり (国立国際医療センター研究所)
2-4. コヒーレント X線回折が切り開く構造解析の新技术	西野吉則 (理研・播磨)
2-5. コヒーレント照明による細胞内小器官のイメージング	前島一博 (理研・和光)
8月7日(火)	
セッション3. 高度化した第三世代光源と第四世代光源の相補的利用と共通の問題点	
3-1. 第三世代放射光源のパルス性を利用したピコ秒ダイナミクス研究の現状とフェムト秒 X線利用研究への期待	足立伸一 (KEK-PF)
3-2. X線マイクロビームを用いた微小結晶での構造解析に向けた取り組み	五十嵐教之 (KEK-PF)
3-3. 難結晶性タンパク質の構造決定における新光源利用の展望	国島直樹 (理研・播磨)
3-4. XFELによる生体分子損傷の物理素過程と多電子・イオンダイナミクス	森林健悟・乙部智仁 (原子力機構)
3-5. 蛋白質結晶の放射線損傷—吸収線量に基づく定量的評価—	清水伸隆 (JASRI)
総合討論	

た。開催日時および会場を5月上旬までに決定し、WSのタイトルは、評議員のメール審議を経て「次世代放射光源を用いた生命科学未踏領域への挑戦」となった。6月初旬までに、プログラム構成と講演者(表1)を決定し、案内・参加登録のホームページを開設するとともに、案内を学会誌「放射光」の第3号に掲載した。

## 2. ワークショップ報告

本ワークショップは、プログラムに示したように3部構成となっており、初日に「生命科学の現状と将来展望」、 「新たな光源と今後の展開が期待される萌芽的計測の現状」の2つのセッションを、2日目には「高度化した第三世代光源と第四世代光源の相補的利用と共通の問題点」のセッションと総合討論を実施した。両日ともに、最高気温35度を超える猛暑であったが、108名の参加者を迎えることができた。また、ほとんどの参加者が最後まで熱心に議論に加わった(図1, 図2)。初日夜には、全ての参加者が一堂に会したバーベキューパーティーが行われ、放射光科学の将来について議論しながら懇親を深めた(図3a, b)。

### 2.1 生命科学の現状と将来展望

例えば細胞を例に挙げると、その活動は、細胞内に含まれる水をも含めた膨大な生体分子が織り成す分子運動が有機的に結合したものであると考えられる。分子のサイズは数ナノメートルであり、その運動はピコからミリ秒の範囲で発生している。一方、細胞は数ミクロンの大きさを持

ち、その運動は秒のオーダーで変化している。この例のように、生命体を形作る細胞の中で生じている生命活動の時間・空間スケールは広大な範囲におよび、とても1つの実験手法によって全ての事象を測定できるものではない。このような事実を再認識するとともに、現在、生命科学のイメージング分野でどのような実験手法が展開されているのかを知ることは、将来の放射光科学の展開、他分野との連携を占う上で不可欠と考えられた。そのため、このセッションでは、生命科学の構造・イメージングに関連する分野のエキスパートを招き、分野の現状と将来の発展、放射光科学への期待について御講演いただいた。

横田浩章氏(都臨床研・JST, 図4)には光学顕微鏡、特に蛍光顕微鏡法による生体分子観察法について、最近の展開と将来の発展について御紹介いただいた。数10 $\mu\text{m}$ の視野で約200 nmの空間分解能を持つこの手法では、蛍光分子、緑色蛍光蛋白質や量子ドットを用いた蛍光標識によって標識された生体分子の位置が特定される。エバネッセント場の利用や光学系の背景光を低減する技術開発によって、標識生体分子の運動をビデオレートで測定できるようになっている。また、複数の蛍光標識によって多事象の同時観察ができる利点もあり、細胞内での分子動態の追跡には、現在もっとも有用な手段であるという印象を受けた。また、蛍光エネルギー移動を利用した分子間相互作用のモニターが可能であり、光学顕微鏡による細胞内部運動観察の可能性を広げるものになっているなどの説明があった。

岩崎憲治氏(阪大蛋白研, 図5)には、電子顕微鏡による生体粒子・分子観察の現状について御講演いただいた。



図1 参加者の集合写真



図2 セッションの様子



図3a 懇親会の様子

日本で開発された極低温電子顕微鏡装置の利用によって、二次元結晶やらせん対称性を持つ複合体では、 $\text{\AA}$ オーダーの分解能が達成されている。特に、近年発展の著しい単粒子解析について、原理と可能性を詳しく解説いただいた。単粒子解析は、多粒子のさまざまな向きの分子像から、単粒子像を再構成する方法であり、分子量数十万の分子に対して適用される場合が多い。現在では1000粒子程度の画像からナノメートル分解能での解析が可能となっており、ウイルスなどの対称性の高い分子では $4\text{\AA}$ を越える高分解能のデータが得られるとのことであった。また、試料の放射線損傷を低減しながらの電子線トモグラフィーについては、ウルトラマイクロトームによる低温での薄膜試



図3b 懇親会の様子

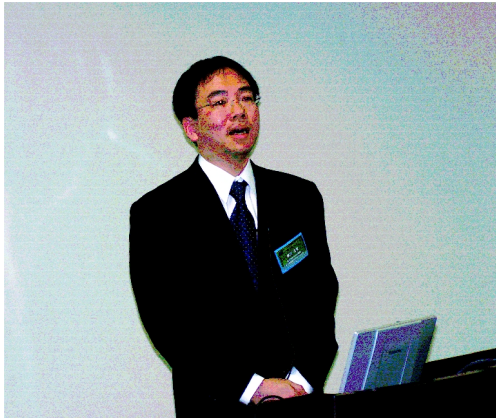


図4 横田浩章氏（東京都臨床医学総合研究所）



図5 岩崎憲治氏（阪大・蛋白研）



図6 今田勝巳氏（阪大・生命機能）

料調製技術を利用した新たな実験手法も紹介いただいた。

今田勝巳氏（阪大院生命機能，図6）は，X線結晶解析，電子顕微鏡という散乱実験手法による構造解析と，それらから得られる構造モデルに対する計算シミュレーションを併用した，超分子複合体の構造・運動研究の戦略について御講演いただいた。結晶化が極めて困難な生体超分子複合

体であるバクテリア鞭毛の場合，構成蛋白質の断片化による高品位の結晶作成と高分解能立体構造解析を行うとともに，バクテリア鞭毛自体の電子顕微鏡によるイメージングから，バクテリア鞭毛全体の立体構造モデルを構築し，そしてその運動を分子動力学計算によって推定するという研究が展開されてきた。今後のターゲットとして，弱い相互作用による分子複合体の解析をあげ，電子線トモグラフィーの進歩を踏まえ，異常分散効果を使って分子の判別が可能なX線CT法への期待を語られた。

## 2.2 新たな光源と今後の展開が期待される萌芽的計測の現状

このセッションでは，セッション1の「生命科学におけるイメージングの現状」を踏まえ，今後，生命科学における放射光利用研究がどのように展開されるのかを考える構成とした。まず，第三代放射光源と第四世代光源から得られるX線の，特にコヒーレンスやパルス性能について，加速器の立場から平易に比較紹介して頂いた。また，結晶構造解析が極めて困難な生体分子が離合集散する姿の観察，第三代放射光源の限られたコヒーレント成分利用した研究など，今後，発展が期待される生命科学分野での放射光利用研究について，現状と次世代光源への期待について御講演いただいた。

田中均氏（理研・播磨，図7）からは，XFELやERLから得られるX線に関して御講演をいただいた。第三代放射光源は，時間平均輝度と安定性は高いが，パルス当たりの輝度は低く，空間干渉性・時間干渉性に限界がある。これらの性能は，電子ビームがリングで平衡状態に達していることに起因しており，これを超えるためには，XFELやERLといった線形加速器を用いた光源が必要である。次世代光源に対する要求として，波長可変，2次元の空間干渉性，1000波長程度の時間干渉性，第三代並みの時間平均輝度，数10 kHzのパルス繰り返し時間，サブfs～数百fsのパルス時間幅，高い安定性などが挙げられた。多数のビームラインを設置できるERLでは，2次元空間干渉性，短パルス，高繰り返しが実現可能であるが，現在の加速器技術では，短パルスと2次元空間干渉性は両立しない。XFELでは，ビームラインの数が限定されるものの，2次元空間干渉性と時間干渉性と高いピーク輝度を実現できる。当面はSASE方式で，光の安定性は重要な課題であるが，将来のシーディング技術による発展が期待されるとのことであった。

鶴田博嗣氏（SSRL/SLAC，図8）の講演は英語で行われ，“Dynamical properties of biological macromolecules and assemblies studied by non-crystalline x-ray scattering and diffraction techniques. *A survey of current capabilities and future prospects.*”が講演タイトルとなった。SSRLでの蛋白質の溶液散乱実験から，結晶構造をもとにした酵素の構造変化の追跡，分子動力学計算の妥当性を溶液散乱の



図7 田中 均氏 (理研)

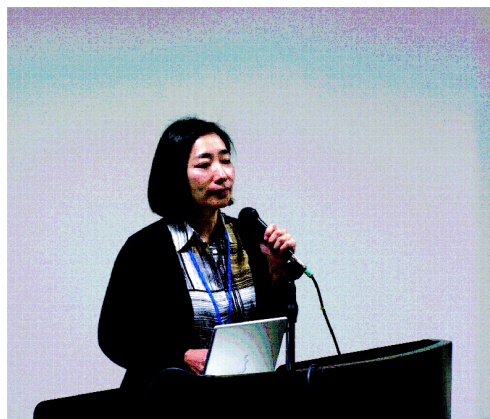


図9 志村まり氏 (国立国際医療センター研究所)



図8 鶴田博嗣氏 (SSRL)



図10 西野吉則氏 (理研・播磨)

データで評価する方法、極低温電子顕微鏡や中性子溶液散乱との連携、X線溶液散乱モデルによる電子顕微鏡画像の補正、時分割測定によるバクテリオファージの成熟過程追跡など、生物学を指向した溶液散乱実験には目を見張るものがあった。最後に、次世代放射光光源への期待、放射線損傷を回避する実験技術開発を紹介した。

志村まり氏 (国際医療センター研究所, 図9) には, SPring-8のBL29XUにおける走査型蛍光X線顕微鏡システムによる細胞内微量元素分布解析の生物・医学応用研究を御紹介いただいた。サブミクロンサイズのX線ビームをプローブとした複数元素の細胞内分布マッピングによって、白金抗がん剤耐性細胞における亜鉛の役割が判明し、亜鉛キレート剤の併用によって薬剤耐性診断の可能性が見出されたとのことである。また肝臓に異常な銅の蓄積を示すウィルソン病モデルラットでは、元素分析結果から、細胞核への亜鉛や銅の蓄積と肝ガン誘導の相関がみられ、元素分析が血液癌の早期治療につながる可能性が指摘された。

西野吉則氏 (理研・播磨, 図10) は、X線回折顕微法について、原理から応用までをお話いただいた。X線回

折顕微法では試料に対してコヒーレントなX線を照射し、得られるスペックル散乱パターン強度情報から、オーバーサンプリング法と位相回復アルゴリズムを用いて構造を決定する。講演では、SPring-8 BL29XUにおけるアルミニウム合金の内部構造解析結果から、電子顕微鏡では難しい厚みのある試料の内部構造解析への有効性を例示した。また、XFELによるX線回折顕微法の展開について、集光技術、検出器などに関わる測定条件や、放射線損傷、像回復方法などについて現状からの予測を行った。世界的にも本格的な研究はこれからであり、今後の研究展開が期待されている。

X線回折顕微法の生体粒子への適用例として、前島一博氏 (理研・和光, 図11) はヒト染色体のX線イメージングについて講演を行った。全長2mにも及ぶヒトゲノムDNAは、細胞分裂期には46本の染色体を形成する。ゲノムDNAは塩基性蛋白質ヒストンに巻かれて、さらにこの構造体が折り畳まれて直径約30nmのクロマチン繊維になることが知られている。しかしながらその繊維がどのようにして、直径約0.7 $\mu$ mの分裂期染色体を形成するのか、長年に亘って生物学者たちの興味を集めてきた。同氏



図11 前島一博氏（理研・和光）

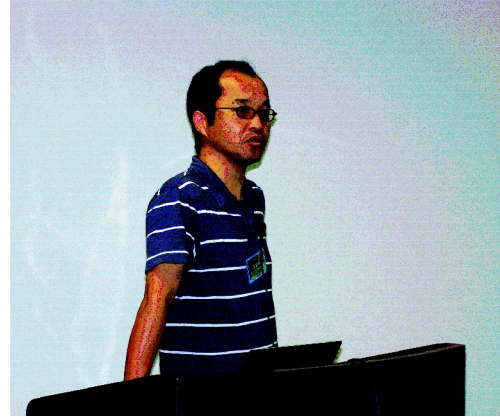


図12 足立伸一氏（KEK-PF）

らは、最近、単一のヒト染色体の X 線回折顕微法による像回復に成功し、三次元像再構築を目指した傾斜イメージ撮影実験を実施中である。今後さらなる解析のために低温凍結観察システムを開発中であるとのことであったが、X 線回折顕微法による生体粒子の直接観察が達成されつつあり、注目された。

### 2.3 高度化した第三世代光源と第四世代光源の相補的利用と共通の問題点

セッション3は、蓄積リング型放射光源を用いた生命科学において、現時点での研究に基づく近い将来での装置開発の方向性、問題点を議論するとともに、次世代光源との相補的な利用について考える機会を与えるものとなった。特に、最後の2演題では、現在でも生命科学研究分野で悩みの種となっている生体分子の放射線損傷に関するものであり、損傷過程の理論的考察と定量評価が報告された。

足立伸一氏（KEK-PF、図12）は、PF-AR おける短パルス X 線を用いた時間分解測定の実状と将来への期待を示した。この方法は、これまでのレーザー光化学では得ることのできない、非平衡状態（短寿命種）の構造情報を直接観測できる特長がある。現時点ではピコ秒オーダーの直接観測が可能になってきており、物理化学分野での様々な反応過程、結晶内部での原子配列ひずみ測定などへの適用例が示され、注目を集めた。また、生命科学分野でもタンパク質の光反応初期過程のポンプ・プローブ実験が、ERL で期待できるとの見通しが述べられた。

五十嵐教之氏（KEK-PF、図13）からは、X 線マイクロビームを用いた微小結晶構造解析への取り組み紹介がされた。PF では、光源開発によって高輝度ビーム利用が可能となり、現状では数十ミクロンサイズのタンパク質結晶のルーチン構造解析が可能となっている。今後、膜タンパク質や超分子など解析対象の高難度化が予想され、微小結晶構造解析技術が非常に重要な開発要素となるとのことであった。すでに低分子構造解析の結果から  $1\mu\text{m}$  程度のサ

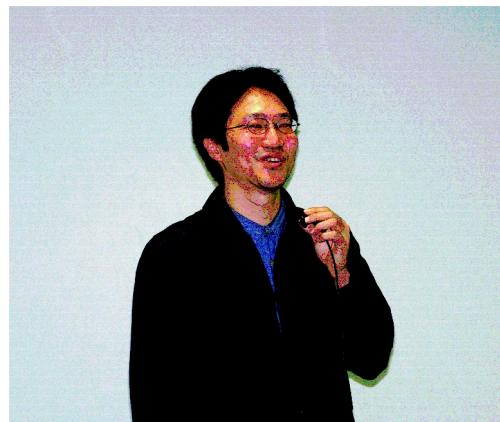


図13 五十嵐教之氏（KEK-PF）

イズまで適用可能になる可能性が示されており、蓄積リング型光源の改良や次世代光源によって実現可能になるとの見通しが示された。また、次世代光源で可能になると期待される X 線回折顕微法との相補的利用が提起された。

これら既存放射光源と相補的、あるいは延長として利用される短パルス性、高輝度性を活かした研究開発に引き続き、国島直樹氏（理研・播磨、図14）は、難結晶性蛋白質の構造解析実現に向けた取り組みについて発表した。これまでの構造ゲノミクスの研究成果から、比較的結晶が得やすいと言われている耐熱性細菌由来の水溶性タンパク質でさえ4割程度しか結晶化できないという現状が示され、その他ほとんどを占める難結晶性タンパク質の構造解析を実現する技術が必要不可欠であると提起された。結晶性向上のための結晶工学の導入と次世代光源による X 線回折顕微法を相補的に利用する戦略が強調された。

森林健悟氏（原子力開発機構、図15）には、密度汎関数法を用いた分子の放射線損傷における電子密度の時間発展シミュレーションとその物理素過程の解釈について御紹介いただいた。その結果に基づいて、損傷が抑制できる光子数の上限の評価や、測定分子の大きさに対してパルス幅、



図14 国島直樹氏 (理研・播磨)



図15 森林健悟氏 (原子力機構)



図16 清水伸隆氏 (JASRI)

波長、X線強度などの最適パラメータの導出を行えるような計算手法の開発が進行中とのことであった。炭素原子の場合、10 fs のパルス幅の光では、波長1 Å ではパルスピークが来る前に電子が全て飛び出し、波長0.5 Å と短くなるとほとんどの電子が束縛状態であること紹介され、照射X線量を評価するための測定システムの必要性が強調

された。

清水伸隆氏 (JASRI, 図16) からは、「蛋白質結晶の放射線損傷—吸収線量に基づく定量的評価—」が報告された。SPring-8のBL41XUを利用して、広い波長範囲で回折データの連続収集を行い、蛋白質分子内部で発生する放射線損傷を可視化しながら、放射線損傷減の吸収線量依存性を解析し、 $10^6$  Gy が放射線損傷の大きな目安となることを明らかにした。現在、照射線量を考慮した実験計画を立案するプログラムが実用化されており、放射線損傷の影響を抑制したデータ測定が可能となっていることが紹介された。

### 2.3 総合討論

総合討論では、山本雅貴氏(理研・播磨)が司会を行い、「次世代放射光源を用いた生命科学未踏領域への挑戦」について、1)放射光を用いた生命科学研究では、どのような現象の何を明らかにしていくのか？ 2)放射光生命科学研究の未踏領域で問題になっているのは何か？ 3)どのようにして挑戦していくのか？という3つの問いについて、各演者と座長にコメントしていただく形式で進めた。

測定ターゲットとしては、数百ナノメートルから数マイクロメートルのサイズの生体分子集合体や粒子の構造研究が挙げられた。これらの試料は結晶化が極めて困難であり、今までに構造が解明されたものは、ウイルス粒子など極わずかであり、XFELを用いたX線回折顕微法の進展に期待が寄せられている。これらのターゲットには、離散集合する分子集合体が数多く含まれ、その構造決定は、創薬はもとよりナノテクノロジー研究への応用を模索する上で重要であり、社会への波及効果も大きいとの意見があった。単粒子解析に関しては、電子顕微鏡で培われたアルゴリズムの応用、立体構造変化など、クリアすべき問題点も指摘された。また、XFELの利用に向けて、微小試料に微小ビームを当てる技術開発が進行中である旨の説明があった。

より広い視野が必要な系としては、細胞のその場観察があげられた。例えば、鞭毛の構造形成におけるリボソームの空間配置や、イオンの濃度勾配を利用して動くモーター分子内でのイオン流のスナップショット観察などがあげられた。細胞のその場観察については、電子顕微鏡のクライオトモグラフィーである程度可能になっているが、生きている細胞を自然な状態で細胞なり組織なりを見る技術開発はこれからの展開を待たねばならない。高分解能での観察が理想であるが、細胞内での分子の動態と機能が集団としての蛋白質の機能を探求する上では、原子分解能に至らなくても見るべきものは多いとの指摘があった。また、XFELによる細胞膜の構造観察への期待が語られた。

上記のような静的構造解析に加えて、生体分子集合体や粒子のダイナミクス解明も重要であることも指摘された。複数のスナップショットが原子分解能で得られている分子

について、各段階の中間状態の構造研究が必要であり、例えば、XFELを利用したポンプ・プローブ研究の発展を期待したいとの意見があった。また、短い時間領域については、現在は物理化学研究が先行しているが、将来、生物分野でも必要になるだろうとの意見に、リガンド解離プロセスを、微小結晶を用いて fs パルスで構造解析する可能性があるのではないかと指摘があった。

放射線損傷については、そのメカニズムの解明には、プラズマ物理などの専門知識を利用しながら、さらに多くの専門家を巻き込んで、この深刻な問題に対処すべきではないかとのコメントがあった。また、ダメージのモニタリングは重要で、試料の放射線損傷測定技術の開発が重要であるとの指摘があった。

新しい光源については、その利用研究を進めるために、装置開発者と生命科学研究者の議論を深めていく必要性が強調された。その点で、今回の会合が放射光の議論や生命科学の議論それぞれに終始しないのが良かったとのWS企画についての意見が寄せられた。今後 XFEL や ERL の利用については、現時点では思いもつかない光源の特徴を行かした新しい測定法の出現への期待が述べられ、実際に無染色生体試料からスペックルパターンが取れたことは驚きであり、やってみなければわからないことは多いとの感想があった。これは、多くの WS 参加者が抱いた感想であると思われる。加速器を建設する側からは、XFEL や ERL の完成時には、さまざまな試みを行い、また、様々な分野間での対話と議論を通じて、新たな技術導入を期待したいとの要望も出された。

従来の光源との関係性については、生命現象をあるがまま見た結果として今まで見えなかった新しい因子が明らかにされてくれば、それらの因子を一つ一つ、結晶解析によって原子分解能で解析する意義はまだ大きいとの意見があった。また、昨今、構造ゲノム・結晶解析への期待が大きかったが、他のさまざまな手法が絡まりあわなければ、生命現象を解明することはできず、結晶解析ではマイクロな視点をカバーすればよいとの意見があった。

### 3. まとめ

放射光における生命科学研究の最大の目標は、放射光というプローブを使っていかに生命機能を明らかにしていくかである。これには、生命の基本単位である細胞や細胞内小器官において営まれている生命活動の素過程を原子・分子レベルで理解するために、遺伝子産物（タンパク質）がどのような形で、何時どこに現れ（細胞イメージング）、どのような変化を経て（翻訳後修飾解析）、如何にして機能するのか（遺伝子産物の機能解析、タンパク質の動的構造変化、一分子生理学）、また、周辺の溶媒分子（水）や有機化合物（脂質、糖）とどのような相互作用を行うのかといった、タンパク質から生体器官まで全ての階層での生命

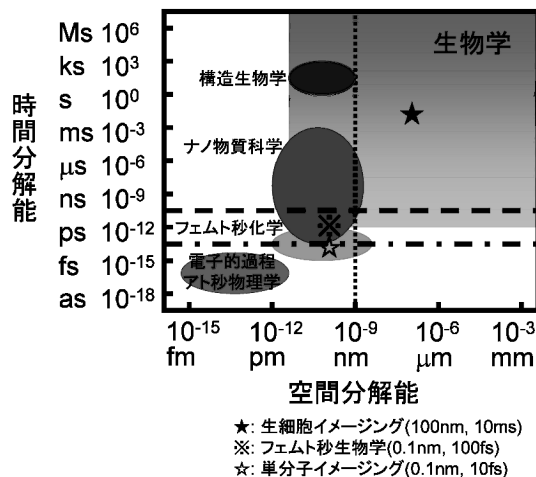


図17 生物学における放射光研究での空間・時間分解能図は足立氏の講演スライドに基づいて改作した。

機能について連続的な空間・時間分解能（図17）における直接観察が必要である。

現在の生命科学研究は X 線結晶構造解析による原子レベルでの個別分子の構造解析、プロテオミクスやメタボローム解析による遺伝子産物の機能解析、分子イメージングによる細胞内での蛋白質動態観察など、それぞれの手法が長足の進歩を遂げながら、生命科学に新たな知見を付け加えつつある。しかし、サブミクロンの空間領域やナノ秒から秒の時間領域における様々な細胞構成分子の相互作用を実時間・原子レベルで可視化する単一の技術は存在しないため、細胞や細胞あるいは細胞内小器官 1 個の中で、“何が何時何処で何と何をしたか”という、いわば、細胞丸ごとでの時間・空間相関観測は不可能である。

将来的には、あらゆる測定手段が細胞丸ごとでの時間・空間相関観測に向けて収斂進化を遂げることを期待したい。そのような中で、今後の高度化第三世代・第四世代放射光というプローブによる以下のような研究の積極的推進が不可欠であろう。

- より多くの生体高分子について結晶解析による原子分解能での精密構造解析
- 結晶化が困難な数百ナノメートルからマイクロメートルのサイズの生体超分子集合体の構造解析
- 時間軸に沿った生体高分子の反応中間体の解析
- 細胞なり組織なりを生きている自然な状態で可視化するイメージング技術
- 細胞内での分子の動態と機能の実時間で観察するイメージング技術
- 放射線損傷の理解とダメージのモニタリング

これらの研究は、様々な技術革新を誘発するとともに、その研究成果は十分な社会への波及を持つものであると期待される。今後の生命科学分野での放射光利用研究をより活性化し、実りあるものとするためにも、より一層の若手



研究者の将来を見据えた研究活動と議論が今後とも必要であろうというのが、WSを通じて参加者全体の共通認識であった。

## 謝辞

本ワークショップを開催するにあたり、独立行政法人理化学研究所播磨研究所および財団法人高輝度光科学研究センターに共催いただいたことに感謝します。また、会の運営にあたり放射光学会事務局およびSPring-8スタッフには、多大なご協力をいただき感謝いたします。

## 参加者からの寄稿文

### 生きた姿を計測することの難しさ

秋山修志 (PRESTO・JST, 理研・播磨)

「自分たちが一生懸命に進めている研究って、いったい何の役に立つのだろう……。」最近、旧友と酌み交わす機会があり、その際にこのような話題が出た。私はタンパク質のX線小角散乱を中心とした研究を展開してきたが、これまでの研究成果が“どう役立ったか”を旧友にスマートに説明することはできなかった。しかし誤解を恐れずに記せば、どのような手法であっても、たとえそれが間接的であっても、あらゆる生命科学研究は“病気を治し、人間の生命活動を豊かにすること”を志しているはずである。本ワークショップに参加し、“1細胞・1分子の生きた姿”の計測から時間空間相関を解明することが如何に医療貢献の可能性を秘めているか、またそのために勇気をもって問題に立ち向かう必要があることを再認識することができた。

ワークショップは光学顕微鏡や電子顕微鏡といった実空間計測の現状紹介に始まり、次世代放射光源、X線小角散乱、走査型X線蛍光顕微鏡、コヒーレントX線回折という順で話題が徐々に逆空間へと展開されるフォローしやすい構成であった。全セッションを通して大変興味深かった点は、タンパク質分子の単分散度に関する議論である。X線結晶構造解析やX線小角散乱を行う際、タンパク質試料は化学的純度が高いだけでなく、凝集や揺らぎに伴う不均一性が小さい状態が最良であるとされている。懇親会で伺ったところ、どんなに高純度で精製したタンパク質試料であっても、電子顕微鏡で観察すると僅かに不均一な成分が見えることがあるそうである。「ほんの少しなのだから……」と目をつぶってしまいそうになるが、将来、タンパク質1分子にXFELパルス照射して原子レベルの情報得られるようになったときには無視できない問題ではなからうか？

試料が単分散状態で調製されているという前提があれ

ば、観測粒子(分類集団)ごとの微細な不均一性から分子の揺らぎ・ダイナミクスを導くことができると期待される。しかし、私が心配なのは、電子顕微鏡写真に写ったスポットが自分の名を語らないように(今田先生の御講演)、ある1分子からの回折データが単分散状態に由来するのかわ、それとも単分散から離れた状態(多分散)に由来するのかわを判断しがたい点である。万が一にも、“生きた姿”を反映したデータを棄却・平均化してしまわないよう、試料調製の技術を高める一方で、生体分子の真の姿を偏見なく紳士的に受け入れる心の準備も必要ではなからうか？

生命科学者の欲を代弁するならば、同じ分子に2発のXFELパルスを短い時間間隔で照射し、2枚の回折パターンの時間相関が知りたい。しかし、そのためにはクリアすべき課題が多いのも確かであろう。第1に、2発のXFELパルスをほぼ同じ位置に照射する必要がある。第2に、2日目のセッションで議論となった放射線損傷の問題がある。2発のパルスを同位置に連続照射する技術革新がなされたとしても、1発目で分子が微塵もなく吹き飛び、2発目が空振りでは悲しすぎる。とにかく可能な限り低温に冷却し、水和水以外の水分子をできる限り減らすことが重要であろうと思うが、その際にもタンパク質の本来の姿を損なわないよう注意が必要であろう。第3に、検出器の時間分解能の問題も考えられる。

少しネガティブな印象を与えてしまったのではないか気がかりであるが、次世代放射光源は細胞や生体分子の生きた姿を記録する能力を秘めた魅力的な光源であると信じている。次世代放射光源を使ってどこまで未踏領域を拓くことができるか、また自分は数ある問題点の中の何処に貢献できる可能性があるのか、本ワークショップは思索を深める良い機会となった。

## 「次世代放射光源を用いた生命科学未踏領域への挑戦」に参加して

山田悠介（高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所）

8月6, 7日の両日, SPring-8内で開催された日本放射光学学会若手ワークショップ「次世代放射光源を用いた生命科学未踏領域への挑戦」に参加しました。毎年この時期に行なわれているこの若手ワークショップは, 2004年から始まり今年で4回目ですが, 第1回から第3回までが光源を中心とした放射光科学全体の議論であったのに対して, 今回は生命科学という特定の分野に焦点を絞った将来像の議論でありました。しかしながら, 生命科学を専門家に限らず他分野の専門家の方も多く参加されており, 次世代光源の利用研究への関心の高さを改めて感じました。

初日はセッションが2つ設けられており, 最初のセッションでは, 光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いた研究, そしてそれらとX線結晶構造解析を相補的に組み合わせた研究について3題の講演がありました。各手法について最新の研究についての紹介だけにとどまらず, それらの手法の現状や問題点, そしてこれからの展望について非常に分かりやすい解説があり, これらの手法の相互理解の重要性を強く感じました。また手法こそ異なれども, 詳細な生命現象を広い視野で見るということを目指しているという点が非常に印象的でした。2つ目のセッションでは次世代光源XFEL・ERLそれぞれがもたらす光の長所短所について解説された田中先生の講演に始まり, 現状の放射光の性質を最大限に利用された研究について4題講演がありました。特に西野先生, 前島先生によって行なわれたコヒーレントX線を用いた染色体のイメージングはコヒーレントX線イメージングの可能性の高さについて再認識させられました。初日夜には懇親会として野外でのバーベキューが催されました。開放的な雰囲気の中, それまでの

講演同様に懇親会でも白熱した議論がいたるところで行なわれ, とても和やかなで楽しいひとときを過ごすことが出来ました。

2日目にはX線結晶構造解析を中心とした時分割解析や微結晶を用いた構造解析, 構造ゲノム科学について現状と将来展望を紹介した3題の講演の後, 生体分子の放射線損傷の問題に関して損傷素過程のシミュレーションに関する講演と実際のX線結晶構造解析における放射線損傷の定量的評価に関する講演が行なわれました。放射線損傷を始め, 微小サンプルの扱いなど我々の取り組むべき問題が明確に伝わり, そのハードルの高さを実感することが出来ました。

このように今回のワークショップではプログラムの構成が絶妙で, 放射光以外の手法による研究紹介から放射光を用いた最先端の研究紹介, そして問題点の提示がバランスよく織り交ぜられており, 私にとってはあっという間の2日間でした。最後の総合討論では座長, 講演者の皆様の将来展望を聞かせていただく機会もあり, おそらく参加者全体で次世代光源を用いた生命科学研究への可能性と問題点について共通認識を持つことができたのではないかと思います。それと同時に2010年に稼動するXFELや計画進行中のERLのもたらす光というものを早く見てみたいと強く感じました。

最後になりましたが, このような素晴らしいワークショップを開催していただいた山本先生をはじめ実行委員の皆様, そして会場係として講演会場, 懇親会場で奔走されていたSPring-8構造生物ビームラインのスタッフの皆様及び関係者の皆様に感謝いたします。