

中性子で“生きた状態”を階層横断的に見て、生物と物質の境界に迫る

小泉 智 強相関超分子研究グループ

Satoshi Koizumi Research Group for Strongly Correlated Supramolecules

“生きた状態”とは、いったいどのような状態なのか。生物と物質は何が違うのか。——この根源的な問いに、小泉 智グループリーダー (GL)たちは迫ろうとしている。生物も、原子を構成要素とする物質(もの)からなる。原子が集まって脂質やタンパク質などの生体分子をつくり、さらに生体分子が生体膜や細胞内小器官をつくり、細胞の生きた状態を実現している。強相関超分子研究グループは、中性子を使って、原子サイズのオングストローム(Å)スケールから細胞サイズのマイクロメートル(μm)スケールまでの階層構造を横断的に、生きた状態のまま観察する独自の手法を開発した。この手法を発展させ「中性子細胞生物学」という新しい分野を確立し、生命現象を理解しようとしている。

“生きた状態”とは何か

小泉 智GLは大学で高分子化学を学んだ。「高分子化学により、分子に複雑な集合体構造をつくらせることはできます。しかし、熱平衡状態にあるその構造が生きて動き出すことは決してありません。生きた状態をつくり出すには何かが足りない。生物と物質を隔てる境界には何があるのか。いつかは、それを探る研究をしてみたいという想いがありました」

2003年、先端基礎研究センターに立ち上がった強相関超分子研究グループで、小泉GLはその長年の想いを実現する機会を得た。小泉GLたちは、生物と物質の境界をどのようにして探ろうとしているのか。

「まず、“生きた状態”とは、どのような状態なのか考えてみましょう」。小泉GLは魚の写真(図1)を取り出した。「これはゴンズイという海水魚です。ゴンズイの幼魚は、外敵が来ると互いにフェロモンを分泌して集まり、ゴンズイ玉と呼ばれる集団をつくります。ゴンズイ玉は状況に応じて形をさまざまに変化させます。ゴンズイ玉は個々のゴンズイとは別の生き物

のように見えます」

小泉GLは、ここに生きた状態の特徴を見いだす。「個々のゴンズイを、タンパク質などの生体分子に置き換えてみてください。多数の生体分子が分子間相互作用で集まって協同的に振る舞い、運動したりパターン(構造)をつくります。それを細胞という上の階層から眺めたとき、生きて見えます。つまり多数の分子集団の協同現象が、生きた状態の特徴だと考えられます」

小泉GLたちは、このように協同的に振る舞う分子集団を「強相関超分子系」と名付け、グループ名に用いた。「外部評価では“強相関超分子系”という用語についてご批判をいただきました。まさに議論してほしい言葉なのです。私たちは、自分たちのやりたい新しい研究内容を、新しい言葉で表現したのです」

小泉GLは、もう一つのキーワードを掲げる。「個々のゴンズイが情報をやりとりすることで、上の階層のゴンズイ玉が生き物のように振る舞います。このように要素同士が相互作用して上の階層へ発展する仕組みを、“階層間情報伝達機構”と名付けました」

独自の中性子超小角散乱法を開発

生体分子をつくる原子はÅサイズだ。それらが集まって生体分子をつくり、1~10nmの生体膜や100nmサイズの細胞内小器官、そして1~100 μm の細胞を形づくっている。「強相関超分子系」や「階層間情報伝達機構」という切り口で研究するには、Åから μm までの階層構造を横断的に、生きた状態のまま観察する必要がある。「私たちはまず、そのような観察ができる独自の手法を開発することにしました」

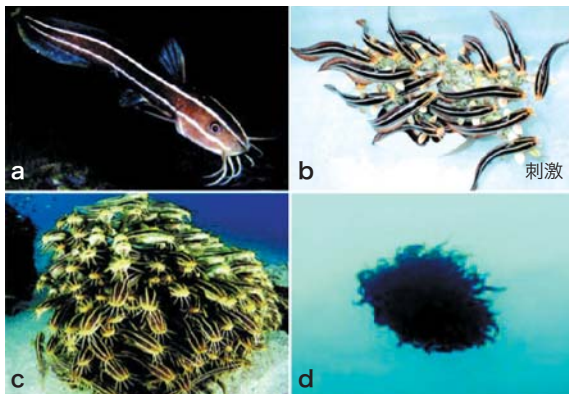


図1 ゴンズイとゴンズイ玉



小泉 智 (こいずみ さとし)

1964年、東京都生まれ。1993年、京都大学大学院工学研究科博士後期課程単位取得認定退学。1993年日本原子力研究所材料研究部研究員。1995年、工学博士。2008年より現職。専門はソフトマター物性、中性子散乱。

SANS-J-Ⅱにて、強相関超分子研究グループメンバー、中性子光学研究グループメンバー(現J-PARCセンター)、機構外建設スタッフらと(最前列左端が小泉GL)

光学顕微鏡で生きた細胞を見ることはできるが、分解能は可視光の波長である数百nm程度が限界だ。電子顕微鏡ではÅサイズの原子を観察することが可能だが、試料を凍結したり薬品で固定染色して真空中において観察する必要があり、生きた状態を見ることはできない。X線も原子サイズの観察が可能だが、試料がX線でダメージを受けてしまう可能性が高いので、生きた状態の観察は難しい。「私たちが用いている中性子小角散乱などの中性子ビームならば、試料にダメージを与えることがないので、生きた状態のまま試料を観察することができます」。中性子ビームを試料に当てると、試料中の原子核によって中性子が散乱する。その散乱の干渉する様子を解析することで、試料の構造を知ることができる。

日本原子力研究開発機構(JAEA)の東海研究開発センター原子力科学研究所では、研究用原子炉「JRR-3」から発生する中性子を使って、さまざまな観察を行っている。そこでは1~10μmほどの大きな構造を見るのに適した「2結晶型(PNO)」と、100nm以下の小さな構造を見るのに適した「ピンホール型(SANS-J)」の2台の装置が用いられてきた。ただし、2台の散乱装置のはざま100nm~1μm前後の構造は、観察ができない空白領域となっていた。

そこで小泉GLたちは、SANS-Jで観察できる構造の上限を100nmから1μmへ広げるための改良を行った。「大きな構造を見るには、中性子が試料に当たって起きるわずかな散乱“超小角散乱”をとらえる必要があります」。従来のSANS-Jでは、試料に当てる中性子ビームの直径が40mmと太かった。超小角散

乱をとらえるには、ビームを細く絞り込む必要がある。そのために2つの集光デバイスを導入した。1つは、2000年ごろデンマークのRISO研究所で開発されたフッ化マグネシウムからなる両凹面物質レンズ(図2) [1]、もう1つは、2000~03年にJAEAと理化学研究所の共同研究により新たに開発した6極型永久磁石磁気レンズだ[2]。

そうして2003~05年にSANS-Jの改造を進め、「SANS-J-Ⅱ」が完成(図3) [3]。ビームの直径を40mmから2mmへ絞り込み、観察できる構造の上限を100nmから1μm以上へ広げることに成功した(集光型中性子超小角散乱法の完成)。またPNOの測定効率の向上を図り、SANS-J-Ⅱと併用することで、原子サイズのÅから細胞サイズの10μmまでを階層横断的に、生きた状態のまま観察する独自の手法を築いた。

細胞が動く仕組みを見る

強相関超分子研究グループは、装置の調整を行い、2007年ごろから新しい手法を使った実験を本格的に開始した。現在、さまざまな研究が進行中だが、ここでは増井友美 博士研究員とともに進めている細胞運動に関する研究を紹介しよう。



図2 両凹面状に削り出したフッ化マグネシウム屈折レンズ
70枚のレンズで冷中性子(波長6Å)を焦点距離10mに集光する。

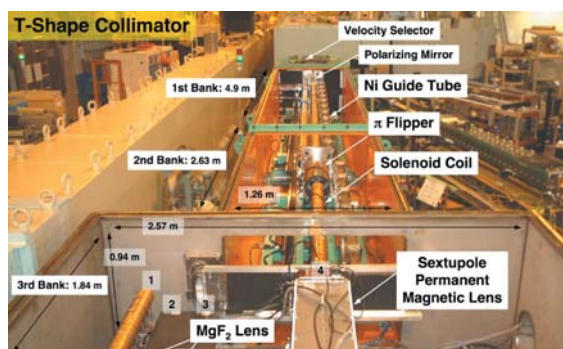
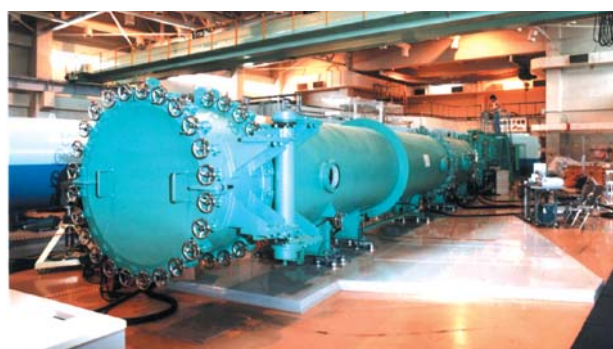


図3 集光型中性子超小角散乱装置 SANS-J-Ⅱ 下流よりの外観(左)。中性子集光素子、偏極素子をレイアウトしたコリメータ内部(右)。

生きている状態の象徴が、細胞の運動だ。例えば血液中の血小板は普段は円盤形だが、刺激を受けると星形に変形して運動し、傷口をふさぐ止血機能を発現する。このような細胞の変形・運動は、細胞内にあるタンパク質(アクチン)が細胞骨格と呼ばれる束状構造をつくり、細胞膜を内側から押すことで起きる(糸状仮足: Filopodia) (図4)。刺激を受けないときは、アクチンは折り畳まれて球状になって細胞内に存在している。それがカルシウムイオン(Ca^{2+})と推定される刺激物質が細胞内に入ること、重合して棒状(アクチンフィラメント)へと構造変化が起きる。さらに個々のフィラメントが凝集して束状(バンドル)となる。

どのような仕組みでこの構造変化が起きるのか、その詳しいメカニズムは分かっていなかった。そこで、細胞内を単純化したモデルをつくり、中性子で観察することにした。アクチンタンパク質はマイナスの電気を帯びた分子だ。さらにアクチンを束ねる分子(アクチン結合タンパク質)があり、それはプラスの電気を帯びている。モデルには、貝類(ホタテガイ)から抽出した天然のアクチンを用いた。一方、アクチンを束ねる物質には、プラスの電気を帯びた人工高分子を用いた。「生命と物質の境界において、静電相互作用の効果を探るために、あえて人工物に置き換えて実験を行ったのです」と小泉GLは説明する。

これら2つの分子を、エネルギー物質ATPの水溶液に入れ、刺激物質となる塩化カリウム(KCl)の濃度を変えて観察した。水溶液は生理条件pH=7.4に調節されている。

光学顕微鏡で見ると、塩化カリウムの濃度が低いときには、アクチンバンドルは球状の塊だが、濃度を上げると、バンドルが棒状に変化していく(図5左)。このときバンドル内部では何が起きているのか、中性子を使ってnmレベルで構造変化を観察した。

すると、顕微鏡で見えるバンドル内部では、さらに細い束(プロトバンドル)が凝集していることが明らかになった。塩濃度が低いときにプロトバンドル

は直径が30nmほどだが、塩濃度を上げると直径が300nmと太くなっていることが分かった(図5右) [4]。「直径30nmという細さでは、アクチン束は柔軟で全体が球状の塊になります。しかし300nmと太くなると、曲げ弾性が熱揺らぎに勝り、曲がりにくくなり、バンドルの形状は棒状となると考えられます」

塩濃度の変化をきっかけにしてプロトバンドルの直径が30nmから300nmへ変化し、 μm スケールの全体の形状が球状から棒状へと変化、その結果、細胞の変形・運動を引き起こすという階層間情報伝達機構が働いたのだ。このような現象が、SANS-J-IIへの改造により観察の空白領域を埋めることで、初めて見えてきた。

ではなぜ、30nmから300nmへの変化が起きるのか。「プラスとマイナスの分子の静電的な相互作用によると考えられますが、そのメカニズムはまさに今、議論しているところです」。研究グループでは、およそ次のように考えている。プラスのアクチンと、アクチンを束ねるマイナスの分子は、ペアをつくり静電的に安定化する。しかしバンドル内部ですべての分子がペアをつくれるわけではない。するとプラスの分子同士、マイナスの分子同士に反発力が働く。その反発力により、アクチン繊維束は一定以上の太さには成長できない。そこに塩化カリウムが加わると、ペアをつくれぬ分子にカリウムの陽イオンと塩素の陰イオンが結びついて反発力が抑えられ、アクチン繊維束が太く成長することができるようになる。微妙な局所的な塩濃度の変化が、細胞運動を取り仕切る情報なのではないか。

物質側から境界を探索

アクチンの実験のように生物と物質の境界に生物側から迫る研究とともに、物質側から境界を探索の研究も、研究グループでは進めている。「高分子化学では、重合反応が持続的に続き、モノマーが供給される限りポリマーが伸び続ける反応を“リビング重合”、生きているという言葉で表現します」

研究グループでは、リビング重合によりポリマーが伸び、マイクロ相分離などへ自己組織化する現象を、中性子でその場観察している。そして、この場合の階層間情報伝達機構や生体との関連を研究している。

さらに、燃料電池を対象にしたユニークな実験も進めている。「燃料電池は、電極・触媒・電解質膜などからなる階層構造を持ち、水素(プロトン)と酸素の化学反応により発電を行います。ここで、電解質膜はプロトン伝導を担う機能場です。この反応は生命

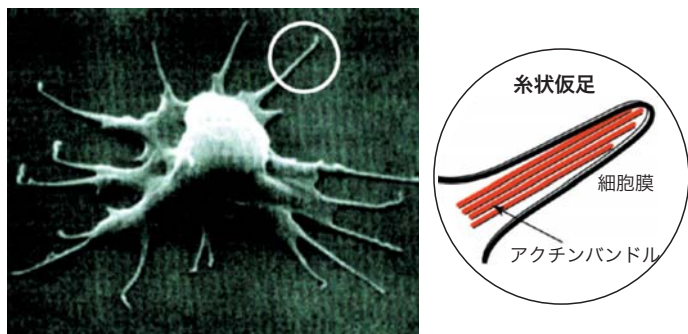


図4 活性化された血小板と糸状仮足 (『Molecular Biology of the Cell』より)

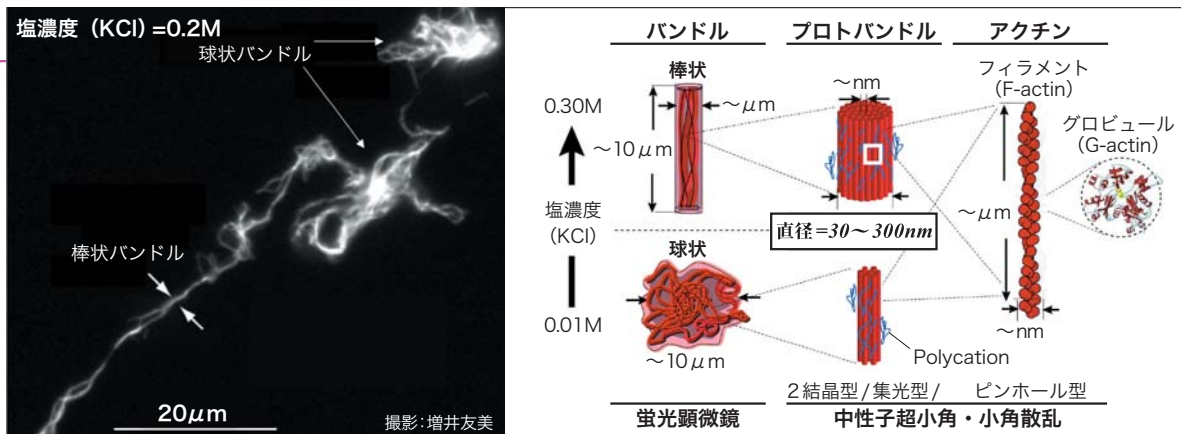


図5 局所塩濃度の変化を受けて変化するアクチン/ポリカチオン複合体 塩濃度が高くなることで、直径30nmだったアクチンプロトバンドルの直径が300nmと太くなる。その束が数本集まった棒状構造が細胞膜を押しこめて、細胞の変形・運動を引き起こす。

の代謝と基本的に同一です。電池の発電を“生きた状態”にとらえ、電解質膜を構成する多数の分子集団の協同的な現象を探っています」

「中性子細胞生物学」を拓く

名古屋大学の美宅成樹^{みたく}教授によると、生命には3つの要素がある(階層、代謝、遺伝) [5]。ここまで見てきた階層構造と代謝反応に加え、自己複製を担う遺伝情報が本質であるという。「3番目の遺伝情報を単純化したモデルで再現することは難しいと思います。3つの要素を兼ね備えたシステムを研究するには、生物そのものを研究対象にするしかないでしょう。私たちは、中性子で微生物(酢酸菌)や血球を生きた状態で観察する研究を行っています。ただし、微生物の体内には多種多様な分子が共存して機能しています。その複雑な状態を観察して分析するには、分子を種類ごとに見分ける必要があります」

中性子で分子の種類を見分けるには、見たい分子の水素を重水素に置き換える方法(重水素置換法)がある。水素の陽子1個の原子核と、重水素の陽子と中性子が1つずつからなる原子核では、中性子の散乱能(散乱長)が異なるので見分けることができる。

さらに、水素原子の核スピンを偏極して散乱長を変える方法も考えられる。例えば、中性子と見たい分子の水素原子核のスピンの両方ともアップの場合と、アップとダウンの場合では、散乱の仕方が異なる。中性子のスピンの方向をそろえ、見たい分子の水素原子核スピンをコントロールできれば、見分けることが可能となる(動的核スピン偏極法)。

SANS-J-IIは、中性子の集光技術とスピンをそろえる偏極技術を組み合わせた、世界で唯一の中性子超小角散乱装置だ。研究グループでは、高分子がつくる分子集合体の中でスピン偏極を制御して、分子の種類を見分ける技術の基礎研究を始めている。

小泉GLは、今後の目標を次のように語る。「近年、

分子生物学が急速に発展し、さまざまな機能を担う分子の種類が突き止められています。確かに分子の種類も大事ですが、生命を理解するには、多数の分子集団の協同現象や階層構造がさらに重要です。それがこれまでの分子生物学には欠落していたと思います。生物学では最近、個々の分子と細胞組織の關係に着目した“分子細胞生物学”という新しい分野が立ち上がってきました。それは私たちの研究が目指す方向と一致しています。私たちは、中性子を使って生きた細胞の階層構造を横断的に探る、言ってみれば“中性子細胞生物学”というような新分野を確立し、それを世界に向けて発信したいと思います。さらに物質科学の視点での生体と人工物質との比較が私たちの持ち味ですね。そして生物と物質の境界に何かあるのかを知りたい。私はその研究をライフワークとして続けていくつもりです」

生命の根源に迫り、生命科学と物質科学に橋を懸ける新しい分野が拓かれようとしている。

(取材・執筆:立山 晃)

●参考文献

- [1] Eskildsen, M. R., Gammel, P. L., Isaacs, E. D., Detlefs, C., Mortensen, K., and Bishop, D. J. Nature **391**, 563-566 (1998).
- [2] Oku, T., Iwase, H., Shinohara, T., Yamada, S., Hirota, K., Koizumi, S., Suzuki, J., Hashimoto, T. & Shimizu, H. M. J. Appl. Cryst. **40**, s408-s413(2007).
- [3] Koizumi, S., Iwase, H., Suzuki, J., Oku, T., Motokawa, R., Sasao, H., Tanaka, H., Yamaguchi, D., Shimizu, H. M. and Hashimoto, T. J. Appl. Cryst. **40**, s474-s479 (2007).
- [4] Masui, T., Koizumi, S., Hashimoto, T., Shikinaka, K., Kakugo, A., and Gong, J. P. To be submitted to Biomacromolecules.
- [5] 美宅成樹, 日本物理学会誌 **50**, 255-262 (1995).

Neutron, a marvelous probe to insight hierarchical structures in living things and to address the question as to what a “living” state is

A focusing & polarized neutron ultra-small-angle spectrometer (SANS-J-II), developed by employing focusing neutron lenses, plays a crucial role to fill the gap in length scales between those covered by conventional small-angle scattering methods by double-crystal and pin-holes. The new scattering method enables us to investigate hierarchical structures of materials or living things in a living state covering a wide range of length scales from Å to 10µm. With the knowledge obtained by it, we aim to establish a scientific field, referred to as “neutron cell biology.”