

理研ニュース

No.156 JUNE 1994

理化学研究所



目次

- 2 研究最前線
迅速X線回折装置の開発
- 6 SPOT NEWS
真空紫外ラマンレーザーによる微細加工
- 6 理研の主な公開特許
- 7 SCIENCE BRINGS US TOGETHER
ガンに挑む一劉 書欽
- 8 原酒
理研、西欧に起つ

迅速X線回折装置の試料保持部のクローズアップ。(記事は2ページ)

迅速X線回折装置の開発

従来より測定時間を2ケタ向上

化合物の立体構造を研究する最も一般的な方法は、X線を使って結晶を構成している原子や分子の配列を決定することである。従来の装置では結晶構造を決定するためのX線データの収集に数日かかるため、短時間に構造が変化するような結晶を時間を追って解析していくことはできなかった。

結晶学研究室では、こうした短時間に構造が変化する固体結晶を研究する目的から、わずか1時間前後で結晶構造を解析できる迅速X線回折装置*の開発に成功した。

迅速X線回折装置は、一般の結晶構造解析の短縮化はもちろん、X線を長時間照射すると壊れてしまう結晶の解析にも使用できるので、有機化学や医薬開発をはじめ、幅広い研究分野で活用されることが期待できる。現在、迅速X線回折装置の実用化とともに、迅速X線回折装置を使った結晶構造解析の研究を進めている。

*Imaging-Plate Diffractometer of Weissenberg type with Adjustable multi-Screens(IPD-WAS)

従来は数日かかった結晶構造の決定

結晶に一方向からX線を照射すると、X線は結晶

の中にある原子や分子で散乱される。結晶の中では原子や分子が整然と規則的・周期的に配列している。この周期性のために、いろいろな原子や分子から散乱されたX線は互いに干渉し、結晶に特有なX線像を作る。結晶の向こうにX線フィルムを置けばX線像を記録することができる。これがX線回折像であり、個々のスポットを回折点という。(図1参照)

一つの結晶から得られる回折点は普通数千個あり、蛋白質のような複雑な結晶では数万個から数十万個に及ぶ。この回折点の様子や各回折点の強さを解析すれば、その結晶の3次元的な立体構造がわかってくる。

従来のX線回折装置(4軸型自動回折計)では、回折点の位置と強度を1点1点検出器で測定していくので、1試料のデータ測定に10時間から100時間以上もかかっていた。

不安定な結晶の構造変化を解析するために

ところで、固体結晶の中には、光や放射線の照射などによって環境を変化させると分子構造が変わる結晶がある。普通は分子構造が変化すると結晶が壊れて粉になることが多いが、ある種のコバルト錯体(図2参照)では、光などの刺激によって結晶構造

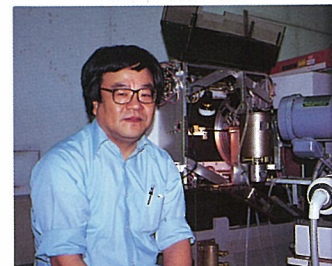


写真1 迅速X線回折装置
(左は神谷信夫先任研究員)

図1 迅速X線回折装置によって得られた結晶のX線回折格子例

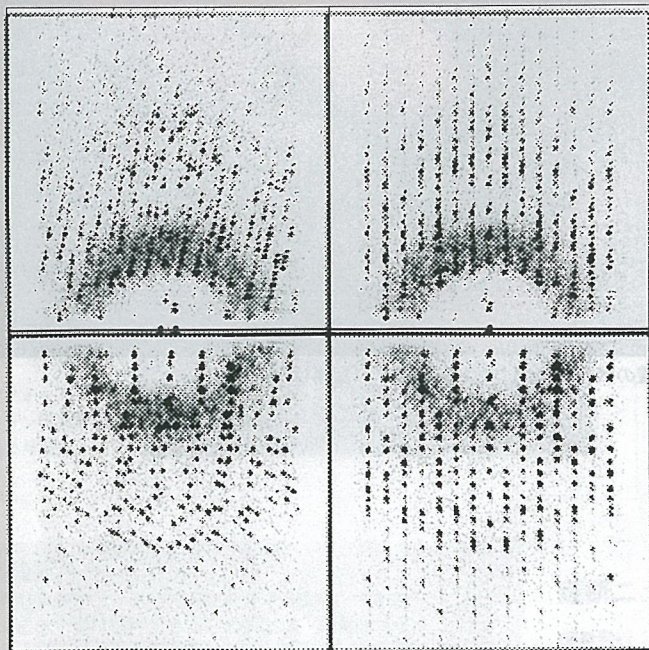
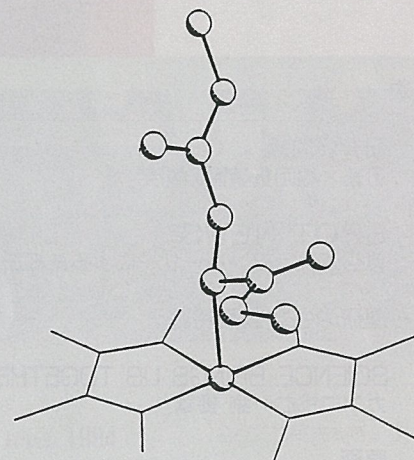


図2 ある種のコバルト錯体の構造



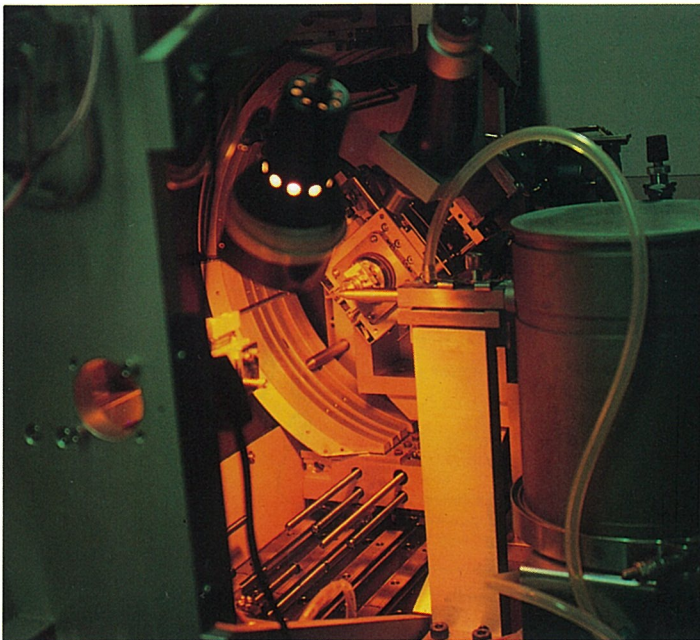


写真2 迅速X線回折装置の記録部。

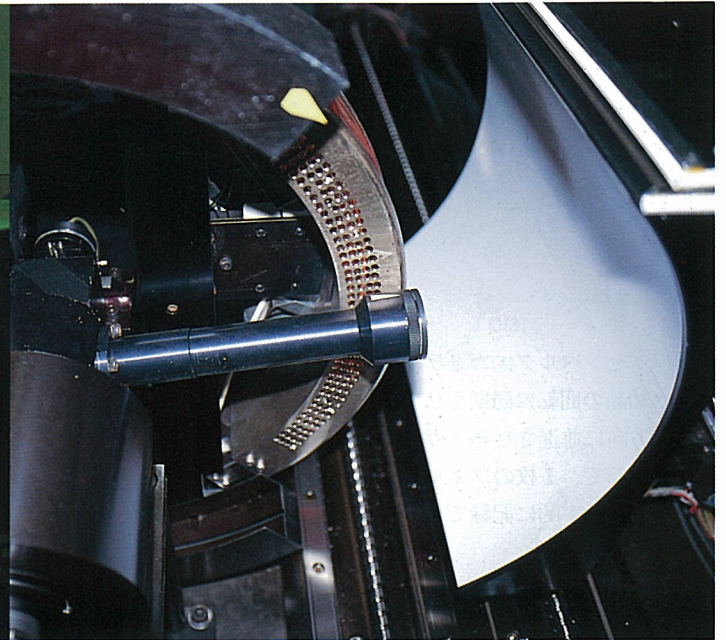
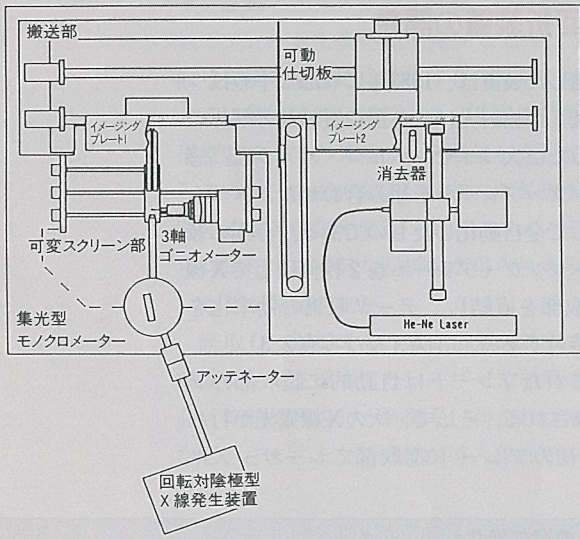


写真3 同読取部。

図3 迅速X線回折装置の仕組み。左側が記録部で右側が読取部。



を保ったまま結晶内の分子構造が変化することが、1970年後半に大橋裕二東京工業大学教授らによって発見された。（結晶相反応という）

溶液の化学反応と違って固体の化学反応はゆっくりと進行する場合が多い。最初に結晶相反応が観測されたコバルト錯体では、構造変化は20日間ほどで完結する。その反応のメカニズムは、当初は4軸型自動回折計を使って解析された。しかし、X線の測定を行っているうちにも少しずつ構造が変わってしまうので、4軸型自動回折計では、初期段階の構造、中期の構造、最終段階の構造といった程度に大づかみに構造変化を知るのが精一杯だった。

その後、数時間で構造が変化する結晶が続々と発見されるようになったが、こうなると、結晶相反応のプロセスを解析することはまったく不可能になってきた。

実験室系の迅速解析をめざして

結晶構造解析のためのデータを短時間に得るには、強力なX線源を使って強いX線回折スポットを得るのが有効な方法である。これにより検出効率が向上するので短時間で構造解析ができる。たとえば、理研が原子力研究所と共同で兵庫県播磨地区に建設中の大型放射光施設SPring-8のようなシンクロトン放射光施設を活用すれば秒単位以下の超高速時間分解構造解析も可能になる。

しかし、数時間から数日で完結する程度の時間スケールの反応を追いかけたり、新しい反応を見つけるための予備的測定などを考えると、このような時間分解構造解析をもっと手軽に実験室レベルで実行できる装置はできないかということが今回の開発テーマだった。

この開発は、文部省の科学研究費（代表：大橋東工大教授）重点領域研究「分子性結晶の反応の解析と制御」の最重点課題として、理研結晶学研究室を中心に、北海道大学、電気通信大、東京工業大学などの共同研究のもとで、1988年度から90年度にかけて行われたものである。研究開発は、X線結晶解析を行うデータ収集時間を、4軸型自動回折計より2ケタ短縮して、20分から1時間程度で行えることを目標においた。

開発ポイントは、以下に集約できる。

- ①巨大ワイセンベルグ・カメラ*と高感度イメージング・プレート*を組み合わせたX線回折装置の採用
- ②高速データ収集と高速データ読取りのための、特殊な光学系や駆動機構の開発
- ③データ収集を効率よく実行するためのソフトウェアの開発

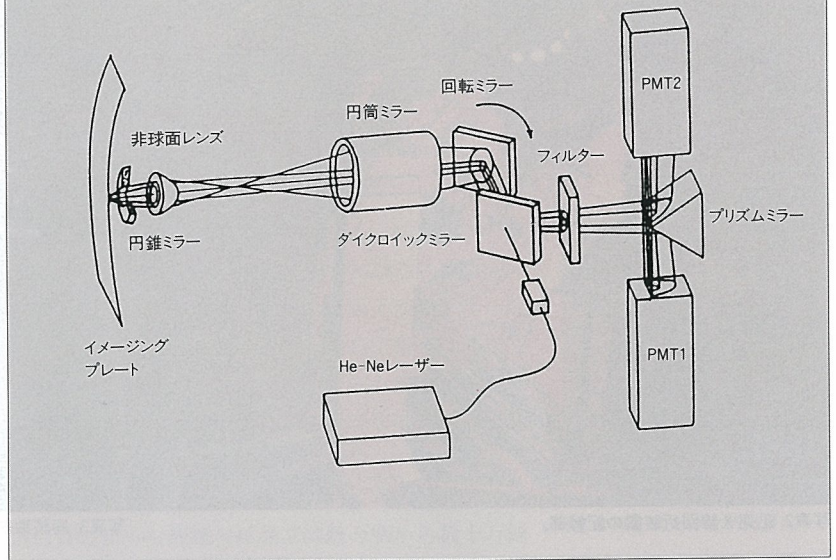
***ワイセンベルグ・カメラ**

結晶の回転に同期させて、フィルムを回転軸方向に並進させるメカニズムをもったX線カメラで、1枚のフィルムに多量の回折スポットを効率的に記録できる。1920年代から使われている。

***イメージング・プレート**

10数年前に富士フィルム（株）で開発されたもので、プラスチックプレートにペースト状の感光剤を塗布したものである。X線があたるとプレートの中のユーロピウムイオンが2価から3価に変わる。このイメージング・プレートを取り出してレーザー光を当てるとユーロピウムイオンが再び3価から2価に戻るが、その時強い蛍光を発する。したがって、イメージング・プレートをレーザーで順次スキャンしていけば、蛍光を発する位置とその強さを連続的に検出することができる。イメージング・プレートは、微弱なX線にも高精度・高速で反応し、映像を電氣的に再現したり増幅したりできるので、医学用X線観察装置にも活用されている。

図4 読取部の仕組み



迅速X線回折装置の開発

理研で開発した装置は、1983年に坂部知平教授（現・筑波大）が放射光による蛋白質結晶の解析のために開発した巨大ワイセンベルグ・カメラと高感度イメージング・プレートを組み合わせたシステムをベースとして全自動化したものである。今回の装置ではイメージング・プレートを2枚使用してX線記録部と読取部を直結し、データ収集の効率化を図ったのが特色である。（図3及び写真2、3）

X線露光されたプレートは自動的に読取部のプレートと交換される。そして、次のX線露光が行われる間に最初のプレート読取部でレーザースキ

図5 迅速X線回折装置で明らかになったある種のコバルト錯体の結晶構造の変化

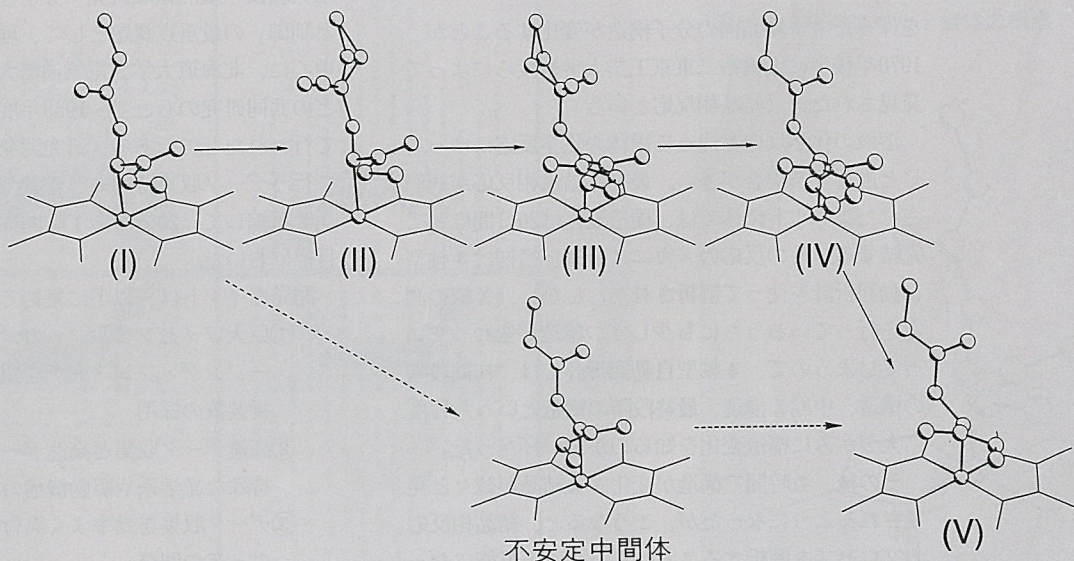
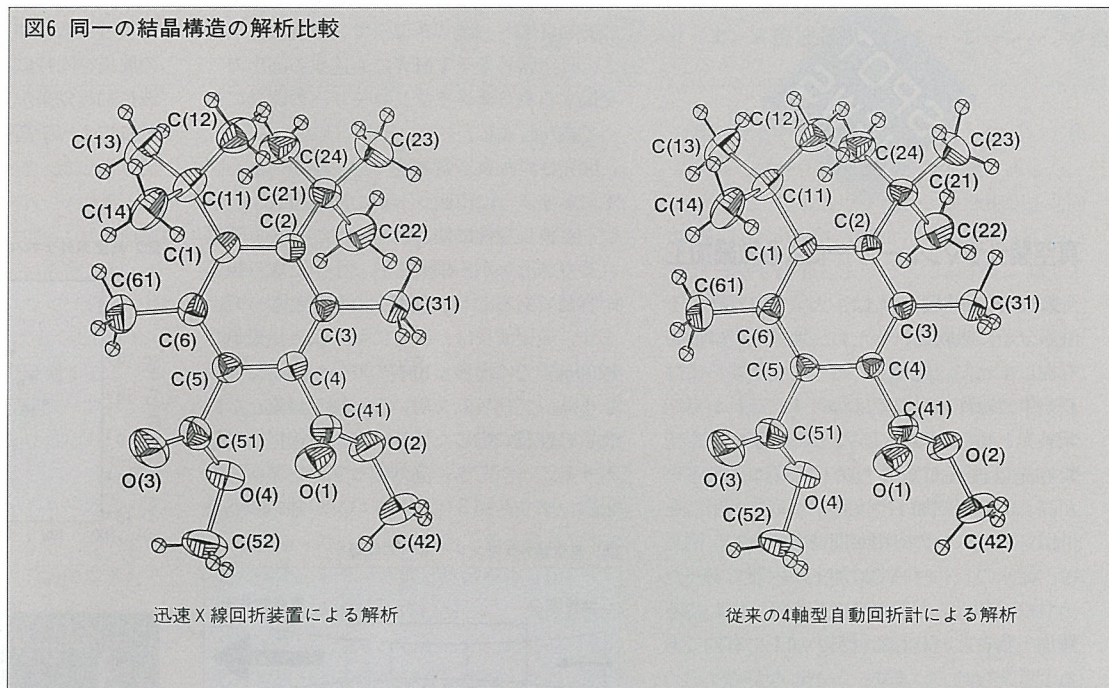


図6 同一の結晶構造の解析比較



ンされてデータ処理される。これを1サイクルとしてプレート交換を繰り返すことで、露光から読取りまでを完全に自動化することができた。1サイクルは最短短約20分で行われ、普通の結晶なら1時間程度ですべてのX線データ収集が完了する。

この他、今回の装置には強力なX線を得るための高性能なX線集光装置（モノクロメーター）や、簡単な操作でクリアな回折像が得られる多重スクリーンなどが開発された。

読取り、解析でも、蛍光信号を効率よく捉える非球面レンズを採用したレーザー光学系や、信号の補正・増幅処理を行う制御系、得られた回折像の補正など、さまざまな新機軸が導入されている。

(図4)

また、データ測定を効率よく行うソフトウェアの開発も大きなポイントで、これは北海道大学の田中勲教授に負うところが大きい。



写真4 岩崎準主任研究員

幅広い化学研究分野に活用が期待される

この装置のプロトタイプ完成は1990年で、従来の装置では不可能だった結晶構造の短時間動的解析が実現した。

その一例が図5のコバルト錯体の結晶相反応プロセスの解明である。(図1はその回折像である)

(I)から(V)までの変化は可視光照射下で約10時間で完結するが、従来は結晶構造が点線のように変化すると推定されていた。それが、今回の迅速X線回折装置によって、(II)(III)(IV)と変化することが初めて明らかになった。

さらに、迅速X線回折装置は、一般の結晶構造解析でも、従来の4軸型自動回折計と遜色ない結果が得られ、汎用性の高い装置であることが立証できた。

(図6)特に、X線を長時間照射すると壊れてしまう結晶の解析にも有効であり、NMRより詳細な立体構造の情報を得られることから、今後、有機化学や医薬開発をはじめ、幅広い化学研究分野で活用されることが期待できる。

最後に、迅速X線回折装置の改良型は、電気通信大や東工大ですでに開発され、また民間企業など数カ所で普及型の装置も導入されており、結晶化学分野でさまざまな成果をあげつつある。

(結晶学研究室 主任研究員 岩崎 準)
 前任研究員 神谷 信夫)

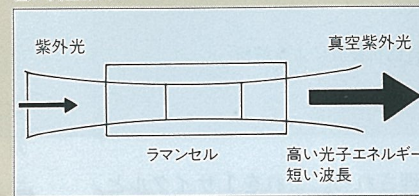
真空紫外ラマンレーザーによる微細加工

波長200nm以下の光は、大気中に存在する酸素分子に吸収されるため、地球上では通常存在しません。従ってこの光を利用するには真空中で操作しなくてはならず、それが真空紫外光と呼ばれる所以になっています。真空紫外光は波長が短いために光子エネルギーが高く、超微細加工や光化学反応を利用した低温プロセスへの応用が期待されます。例えば、従来のレーザーでは加工が困難であったテフロン基板や石英ガラス基板等、いわゆる難加工物質といわれる材料の加工に有効であると考えられています。しかしながら、この波長領域で実用的なレーザーは皆無の状態、早急な開発が望まれていました。レーザー科

学研究グループでは、非線形光学効果の一つである反ストークス誘導ラマン散乱により、この真空紫外光を1 MWにも達する高出力で発振する真空紫外ラマンレーザーの開発に初めて成功しました。

開発された真空紫外ラマンレーザーは、図1に示すように市販レベルのNd:YAGレーザーと波長変換に使われるラマンセルと呼ばれるガスセルから構成され、小型で取り扱いが容易であることが実用上の利点となっています。発振波長は、図2に示すように最低で120nmまでに達し、10本の波長が同時に発振します。プリズムを用いると加工対象となる物質の性質に応じた任意の波長を選択して照射することができ、高効率なプロセスが可能となります。図3は、テフロンが強い吸収を

図1 真空紫外ラマンレーザーの原理



持つ160nmの波長を選択し、アブレーションによって微細加工を行った例です。また10本の波長を同時に石英ガラスに照射すると多重波長励起効果が生じることを新たに見い出し、それによって高性能な加工を実現することができました。

(レーザー科学研究グループ)

図2 真空紫外ラマンレーザー出力特性

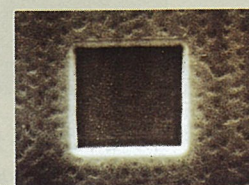
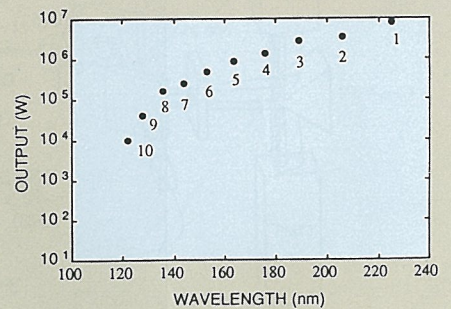


図3 微細加工されたテフロンの表面

理研の主な公開特許

- H5-285566 イオンビームエッチングによる金型成形方法
素形材工学研究室 池 浩
微細な表面形状と「抜き勾配」や「エッジ部の丸み」を有する超硬合金の金型を高精度に製作する方法
- H5-306916 縞位相分布解析方法および縞位相分布解析装置
光工学研究室 加藤純一、山口一郎
複数の撮像手段や複雑な光学系を必要とせず、かつ、高速に縞画像から位相情報を抽出し解析することができ、従来に較べてより広範囲な測定に適用することのできる縞画像の位相分布解析方法および位相分布解析装置。
- H5-312737 全反射状態の検出方法および微量元素の測定装置
無機化学物理研究室 河合 潤、早川慎一郎、前田邦子、合志陽一
従来に較べて全反射状態を容易に検出することができ、簡単かつ正確に全反射臨界面度を決定することのできる全反射状態の検出方法および微量元素の測定装置。
- H5-312999 マルチトレーサーの製造方法
核化学研究室 安部静子、大久保嘉高、岩本正子、小林義男、安部文敏
従来に較べて短時間で放射性同位元素を取り出すことができ、半減期の短い放射性同位元素であってもトレーサーとして有効に使用することができるとともに、製造に要する労力の軽減を図ることのできるマルチトレーサーの製造方法。
- H5-344884 セルラーゼAEC3、セルラーゼ遺伝子を含むDNA断片、及びセルラーゼAEC3の製造方法
微生物学研究室 堀越弘毅、工藤俊章
カルボキシメチルセルロースを基質としたときに至適pHが7、分子量が68,000、pH6~10の範囲で安定であり、成熟酵素の成熟蛋白のN末端アミノ酸は31番目のアラニンである新規セルラーゼAEC3、及び該セルラーゼをコードする遺伝子を含むDNA断片を提供。
- H5-346596 レーザー光の発生方法および発生装置
レーザー科学研究室 田代英夫、和田智之
真空紫外領域のレーザー光を得ることができ、かつ、広い波長域において連続的に高出力のレーザー光を得ることのできるレーザー光の発生方法および発生装置。

ガンに挑む

劉 書欽 (ライフサイエンス筑波研究センター ジーンバンク室)

二度も日本に来たのは何か縁があるのでしょうか。日本の方々との触れ合いは、京都大学の大学院生時代から、かれこれ十年にもなります。京都は大学時代に滞在した中国の四川省成都と風景がよく似ているためか、日本での生活は違和感があまりなく、言葉を除いては、外国にいる実感がしばらくありませんでした。日本一を誇る理研で研究することができたのは夢のようです。理研ジーンバンク室で研究して早くも一年になりました。

日本の理研と京大といえば、ノーベル賞の受賞者が何人も出た厳しいところだろうと皆さんは思われるかも知れませんが、私の経験では、どちらも自由な雰囲気の中で議論を重ねて、研究を進めています。慣例として研究グループの週間報告とその議論を欠かしません。これが日本に来て、一番記憶に残ることでした。京大を出て、中国に戻り、このシステムを大学実験室に導入したところ、好評を得て大学の話題にもなりました。

ジーンバンク室では研究に広く使用されている動物細胞及びDNAを維持管理し、全世界の研究者に供給しています。その細胞培養、品質管理のノウハウは世界でも一流に入ります。ここで、ヒト正常細胞の培養とヒト抗ガン抗原抗体の迅速作製技術を精力的に研究しています。

人間の体には常時10の4乗ないし7乗個の突然変異細胞が存在するといわれています。体の状況を逐一チェックし、異常な細胞を発見し、排除するのは免疫系統の役割です。その変異細胞が免疫系統から逃れると、ガン組織として増え続けます。自然な免疫系統は無制限の種類キラー細胞と抗体を作り出しています。ガン患者の体内において、免疫細胞がガン細胞を認識できなかった、あるいは免疫応答を惹起する環境がガン組織の周辺に形成できなかったため、病に発展したと思われます。これらのガン細胞を特異的に認識し、溶解する殺傷性細胞を誘導するのが私の仕事です。

細胞培養技術を駆使して、体外において免疫系統を活性化させる環境を作り上げました。その中で、患者のガン細胞と血液細胞を共同培養しガン細胞に特異的な殺傷性を持つリンパ球細胞を誘導しようとしています。高分子化学屋の私には、命ある高分子集合体の細胞自体を研究することは、大変なことでした。細胞を最終的に人間の体に戻さなくてはならないからです。素人の考え方で常識から外れたためか、体外の評価実験では24ないし48時間の接触反応で対一のガン細胞殺害能力を持つリンパ球細胞を半年で作ってしまいました。当初一年半の滞在予定を一年に切り上げたせいで、大変忙しくなりました。ボスが病院と提携して、臨床応用をしようと決めたからです。今は、皆様に親切にさせていただいて、ガン細胞との戦いに夜遅くまで研究に勤しむ毎日が続いています。

(この原稿は本人の日本語での直筆原稿です。)

Fight against cancer

by Liu Shugin, Tsukuba Life Science Center

Is it a fate I could come twice to Japan? The contact with the Japanese began from my postgraduate course in Kyoto University. It counts ten this year. Maybe Kyoto city is very similar to Chengdu, China in the scenery, where I stayed for four years in my graduate days. The living in Japan went on smoothly, and I had no feeling in a foreign country for a while, except the language. It is just like a dream that I can do the research at RIKEN, the No.1 institute in Japan this time. It has become one year after I came to RIKEN Gene Bank.

As to RIKEN and Kyoto University, it is easily considered to be a strict place where there are several awardees of Nobel prize. In my experience, every lab moves the study forward through a discussion about its any project every week at the free atmosphere. This is the first thing that impressed me strongly when I came to Japan. After I graduated from Kyoto University and returned to China, we introduced this system into our laboratory. So, it became a very topic thing in our university.

RIKEN Gene Bank administrates animal cells and animal DNA that are used widely for researches, and provides them for scientists in the world. There are the top level techniques about cell culture and quality administration. The culture of human normal cells and techniques for rapid preparation of antibodies against human cancer antigens are under enthusiastic investigation.

There exist ten to the power four to seven of transformed cells within human body every time. The immune system checks the situation of the body, searches out and eliminates the transformed cells. Once the transformed cells escape from the immune system, they grow indefinitely as cancer tissues. Native immune system produces indefinite kinds of killer cells and antibodies. Immune



研究室の仲間と
(左より2人目が筆者)



研究風景

京都にて



cells may not recognize cancer cells, or the environment stimulating the immune response could not form around cancer tissues within the body of cancer patients, leading the formation of large solid cancer tissues. My work is to induce cytotoxic cells that recognize specifically those cancer cells and resolve them.

With the cell culture techniques, we made up the environment making active the immune system outside the body. We wish to induce lymphocytes having cancer cell-specific cytotoxicity by co-culturing patient's cancer cells and blood lymphocytes. To me, a polymer chemist, it is terrible to research the cells that themselves are a polymer assembly with life. That is because we must return cultured killer cells to human bodies. Perhaps due to the layman's thinking quite different from common knowledge, it took only half year for inducing a killer lymphocyte that recognized and resolved cancer cells completely at the cell-cell level by the 24 - 48 hour contact reactions in the in vitro experiments. We have being become more busy after we advanced the initial one and half-year plan by one year! Our boss decided to cooperate with hospitals and apply the killer cells clinically. The hard work for fighting against cancer cells still continues every day, with the kind help from the staffs.



理研、西欧に起つ

理研に入所して1週間後、主任からいきなり英国出張を言い渡される。パスポートを持っていないという、今時の学生が何故、と珍しがられた。貧乏だったのだから仕方ない。何とか間に合わせ、まだ4月も終わっていないのに、そそくさと飛行機に乗る。私がこの春から参加するプロジェクトは、この2週間で何とか概略をつかんだと思う。機中で再度資料に目を通す。オックスフォードの南約50kmのところにラザフォード=アップルトン研究所(RAL)加速器実験施設があるという。そこでは、8億電子ボルトまで加速された陽子を標的に当て、破碎中性子を引き出し中性子散乱実験を行う。また、その中性子生成標的の前に別途生成標的を置いてミュオン粒子を生成し、ミュオン実験も行っているとのこと。その英国ミュオン施設の反対側に、理研のミュオン施設を造ろうというのだ。

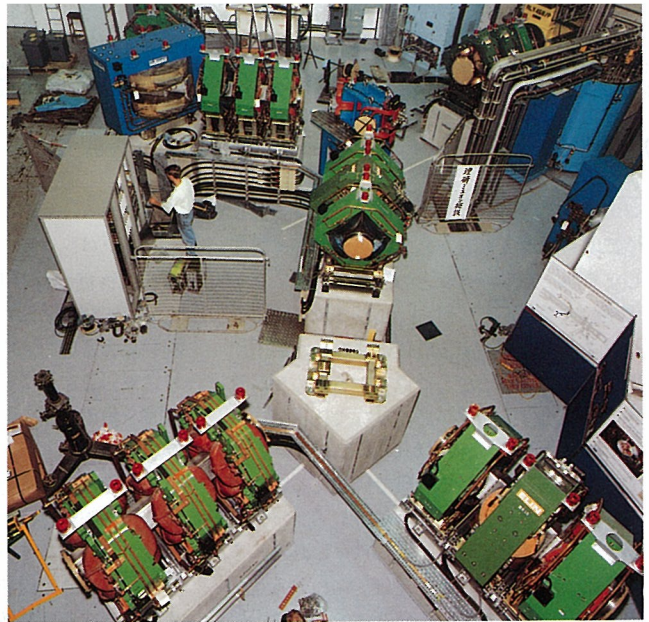
この世に生を受けて27年、初めて踏んだ異国の土は英国ヒースロー空港。いきなり入国審査官が私を入国させない。周りの人は次々と入国する。まさか&真っ赤っかの日本政府発行のパスポートを見せているのに。もしかしたら、長旅で疲れないようにと、この着なれたぼろいジャージにポロシャツが、いや、黄色い鉢巻きが悪かったのかしら。それとも面構え?。英語を聞くのも話すのも初めてだから、もう減茶苦茶。何とか入国させて頂いて、迎えのタクシーに乗り一路宿へ。宿のおばさま(写真)の笑顔に疲れが吹き飛ぶ。英国の女性は色白で綺麗ですな。おばさまに連れられて近所の中華のテークアウト「金竜」に行く。これがなかなか旨いんだな。楽しみが増えた。翌日RALへ向かう。街を抜け、広々とした畑が広がる。緩やかな起伏。丘と呼べる物はない。道ばたには野兎が走る。北海道は標茶のような風景だ。その中にどーんと広がるRAL。いやでもテンションが上がってくる。理研の西欧の拠点となるべき所だ。加速器施設を見る。将来は、ラクダの背のような格好の二重ミュオンパルスをここで発生させる。まだ、何も無い。この二重パルスをキッカー磁石を用いて二つに分け、同時に二つの実験を行えるのが、理研ミュオン施設の特徴だ。ここでは



うるわしの宿屋のおばさま。デブラッハさんと共に(右が筆者)。



ラザフォード・アップルトン研究所全景。裏山より望む。



理研ミュオン施設全景。完成しつつあるミュオン収集系。

世界最強度のミュオンビームを作れるらしい。ビーム強度が強くなればデータ量が増え、実験も今までとは段違いに進行するはず。これは色々楽しめそう。ミュオン触媒核融合実験も新たな飛躍を得られるという。と、悦に入るのもつかの間、建設の技術打ち合わせは地獄。暗号が頭の上を飛び交う。学校で習った英語とは全然違うではないか!。いい加減わからなくなると今度は睡魔が襲う。新人が寝ていては洒落にならんと、目を開けてはいるが、半睡。これを朝から晩まで続けられると拷問に近い。憔悴して帰った後のエナジーの素が、宿のおばさまと、金竜のお姉さんの綺麗な笑顔。明日も頑張りうと気合が入る。ただ困ったことに、毎日金竜に行くと、みるみる腹に肉が付いていく。腹の肉がこれ以上増えるのを黙認すべきかどうかが大問題。知るか!、決めた!!。めちゃかわいい金竜のお姉さんに今日も会いに行こう。

あれから2年経った。まあ、色々あったわ。英語を聞き間違えてのスーパー大ちゃんぼは今だに身震いを起こさせる。あの瞬間、会議の席上全員が約3秒は凍りついた。施設心臓部のソレノイド超伝導磁石の設置、励磁試験も終了した(写真)。励磁試験中徹夜組の私は完成記念写真から外された。キッカー磁石の開発のため、RALと仙台を何度も往復した。努力の甲斐あって見事な性能を持つキッカー磁石が完成した。今はスエズ辺りを輸送中だろうか。英国文化に触れ、色々な人と会話し、議論し、食事をし、色々な勉強をさせてもらった。このニュースが発行される頃には、私は、施設の最終建設のため、長期でRALに滞在しているだろう。今も、建設の最終段階が進行中である。10月には建設を終了しファーストビームが出る。次は、研究者として、我々がこの施設を発展させていく番である。

ミュオン科学研究室/研究員 渡邊 功雄



理研での壮行会にて

編集後記

研究最前線では「迅速X線回折装置の開発」を掲載しました。結晶構造を手軽に解析できるこの装置は、医薬品開発をはじめ多彩な分野での活用が期待されます。原酒コーナーでは英国に設置されるミュオン施設を紹介しました。今後も世界の科学研究に活かされていく理研の開発による多彩な装置、設備の紹介を随時行います。ご意見、ご感想をお待ちしています。

理研ニュース No.156 June 1994

発行日:平成6年6月15日

編集発行:理化学研究所開発調査室

〒351-01 埼玉県和光市広沢2番1号 電話(048)462-1111(代表)

制作協力:株式会社エフピーアイ・コミュニケーションズ