1SMN1-5

感覚神経信号の計測と刺激 ～神経電極と人工触圧覚生成技術の現状～

○鈴木 隆文（東大・国際産学共同研究センター）

末梢神経系、特に四肢の末梢神経の感覚神経信号を計測することによって、触圧覚など、各種の体性感覚に関して、物理的・神経信号・生じる感覚の相互関係を解析することができる。また逆に、感覚神経を電気的に刺激することによって任意の神経信号を生成し、それによって生じる感覚との関係を調べることもできる。これらの信号入出力を実現するためには、それぞれの応用に適した神経電極が必要となる。本講演においては、まず末梢神経系に用いられる神経電極技術の現状について概観する。これには、従来からあるタンゲステン微小針電極やカフ電極に加え、神経軸索の再生能力を利用した神経再生型電極（下図）や、剣山型電極なども含まれる。さらに演者らによって行われている感覚神経電気刺激による人工触圧覚生成についても紹介する。これは手首部より健康被験者の正中神経に刺入したタンゲステン針電極によって、単一の感覚神経（機械受容ユニット）を刺激するもので、これまでに刺激周波数と生成される触圧覚の感覚強度との関係を調べてきた。さらに、2ユニットを刺激したときに生成される感覚について現在研究を進めている。

T.Suzuki : Measurement and stimulation of sensory nerve signals - Technology of nerve electrode and artificial pressure sensation-

1SMN2-2

蛋白質結晶の水素原子が見えたら・・・

○野中 孝昌^{1,2}（¹長岡技科大・生物系、²理研播磨・生体物理化学）

放射光X線の高輝度化をはじめとする様々な技術の発達のおかげで、蛋白質結晶から原子分解能（1.2 Å超の分解能）のX線回折強度データを得ることができるようになった。その結果、次のようなことが可能となった。（1）非水素原子の異方性温度因子と水素原子を加味して結晶構造の精密化を行えば、等方的に精密化した場合と比べて、特に高分解能でのR-factorが小さくなる。すなわち、原子位置の誤差が非常に小さくなる。（2）温度因子があまり大きくない場合には、炭素、窒素、酸素原子を明瞭に区別することができる。すなわち、電子1個分の違いを判別することが可能となる。（3）差フーリエ図上に溶媒分子や乱れた構造のみならず、水素原子をも容易に見出すことができるようになる。現在、我々は2種類の蛋白質の原子分解能のX線結晶構造解析を行っている。温度因子が概ね10 Å²を越えない場合には、側鎖の先端の水素原子に対応する電子密度分布までもを見いだすことができた。また、二次構造形成に関与する多くの水素原子も確認できた。さらに、ヒスチジンのプロトン化の違い（図）を明らかにすることもできた。講演では、水素原子が見えることの意義と、X線結晶構造解析の可能性と限界について議論したい。

T. Nonaka : After an identification of a proteinic hydrogen atom

1SMN2-1

酵素中の反応水素を見る

緒方 英明¹、水野 伸宏¹、三木 邦夫^{1,2}、足立 伸一²、安岡 則武³、八木 達彦⁴、○樋口 芳樹^{1,2}（¹京大・院理・化学、²理研播磨、³姫工大・理・生命、⁴静岡大）

ヒドロゲナーゼは水素をプロトンと電子にあるいはその逆反応を触媒する分子量およそ90 kDaの金属酵素である。細胞膜内外のプロトン濃度勾配を調節し、エネルギー代謝や酸化還元反応を円滑に進める役割を持つ。酸化型[NiFe]ヒドロゲナーゼの活性部位には4つのシステイン残基と4つの非アミノ酸由来の分子が配位子として存在する。システイン残基はNiを配位し、そのうち2つはFeにも配位してブリッジを形成している。非アミノ酸配位子のうち3本は2原子分子のSO、CO、CN分子と同定している。また残りの配位子は単独S原子であることを明らかにした。この単原子配位子はNiにも配位し、3番目のブリッジを形成していた。結局、酸化型酵素ではNiは5配位構造を、またFeは6配位構造をとっている。一方、還元型では単原子Sブリッジ配位子が消失し、それぞれ4配位、5配位構造となる。本酵素では反応の基質は最も小さな分子・水素である。タンパク質など巨大分子のX線結晶解析においては水素原子の位置を電子密度上にとらえることは非常に難しい。最近、本酵素の[NiFe]活性中心における水素の初期反応部位を決定するために、競争阻害剤であるCO分子との複合体の結晶解析を進めたところ、Niのすぐそばに反応途中の水素分子と見られる電子密度をとらえることに成功した。この電子密度が反応中に阻害剤によりトラップされた水素分子であることを裏付けるため、分子量90 kDaを越えるヒドロゲナーゼ分子中の他の水素原子の同定を進めている。これには、1.4 Åを越える超高分解能で、さらに超高精度（高角側だけでなく、低角側の反射データも含めて）の回折実験が要求される。本実験は、超高輝度放射光X線（SPring-8及びKEK-PF）を利用した低温X線結晶解析による成果である。

H. Ogata, N. Mizuno, K. Miki, S. Adachi, N. Yasuoka, T. Yagi and Y. Higuchi : Assignment of the substrate (hydrogen molecule) at the active site of [NiFe] hydrogenase

1SMN2-3

放射光ビームラインでの原子分解能X線回折データ測定

○足立 伸一（理研・播磨研究所）

Sheldrickらの定義[1]に従えば、atomic resolution（原子分解能という訳語を充てる）の回折データとは、1.2 Åまたはそれより高分解能の回折強度を含むデータであり、かつ回折強度 $I > 2\sigma(I)$ を満たす回折点の最外殻におけるコンブリートネスが50%以上であるデータのことを言う。近年この基準を満たす原子分解能構造解析の結果が続々と誌上発表され、本シンポジウムのテーマである水素原子座標や異方性温度因子と蛋白質の内部運動の関係などについて活発な議論が行われているが、この背景には放射光ビームラインでのデータ測定が定常的に行えるようになったことが密接に関係している。原子分解能回折データ測定を行う上で重要なことは、非常に弱い高分解能の回折強度をいかに精度良く収集するかに尽きる。この点において放射光ビームラインを使用するメリットは、志向性の高い1 Å以下の高強度短波長X線を使用できることであり、これによって試料による吸収効果を最小限に押さえることができる。また二次元検出器の限られた受光面積を有効に使うことができるという副次的なメリットもある。さらに試料の冷却技術が向上し、液体窒素温度付近で試料を凍結させても高分解能の回折点を与える状態に保つことができるようになったこと、CCD検出器のような高速読み出し型検出器が設置され、結晶が損傷を受ける前に1個の結晶から全ての高分解能データが測定できるようになったことも測定精度の向上に大きく貢献している。講演では、SPring-8のBL44B2で行われている実験を例に取り、原子分解能データ測定の現状と問題点、今後の展望について述べる。[1] Sheldrick G.M. (1990) Acta Cryst. A46, 467-473.

S. Adachi : Atomic Resolution Data Collection at Synchrotron Radiation Facilities