

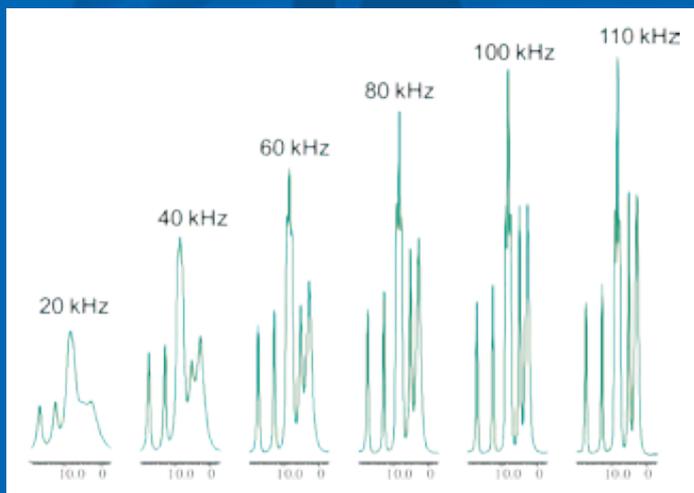
NMR

<http://www.nmrj.jp>

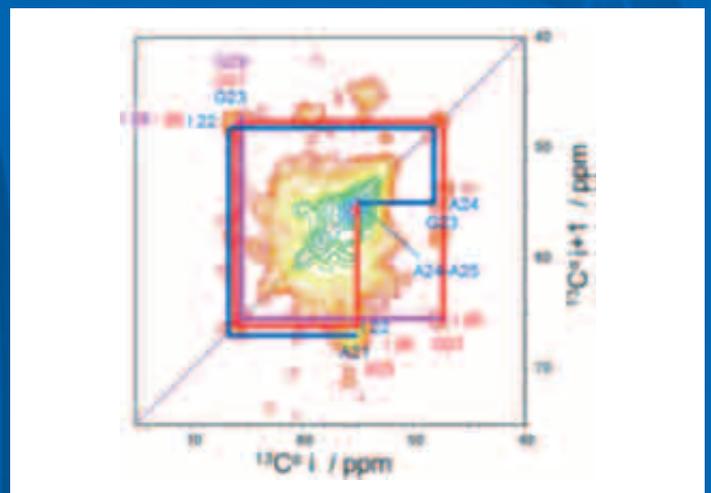
Vol.3

October 2012
(特別号)

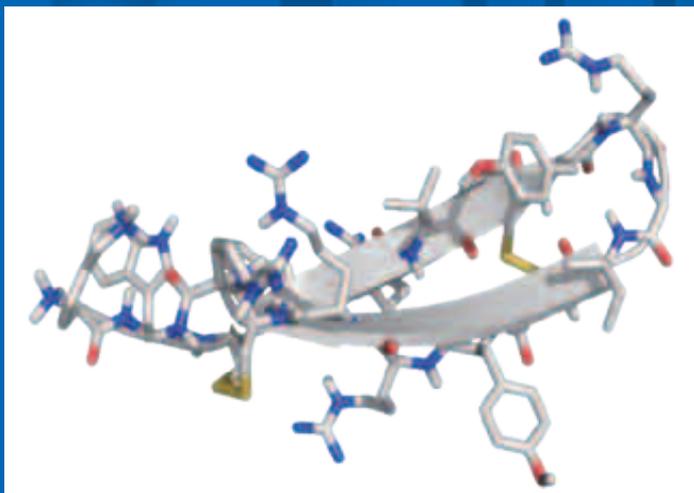
BULLETIN OF THE NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SOCIETY OF JAPAN



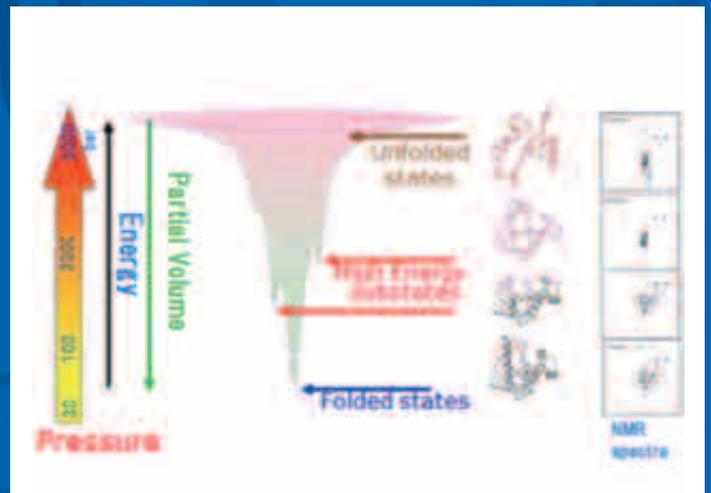
超高速 MAS NMR



固体 C-C 相関 2D NMR



Tachyplestin の NMR 構造



高压蛋白質 NMR



NMR

BULLETIN OF THE NUCLEAR
MAGNETIC RESONANCE SOCIETY OF JAPAN

Vol. **3**

October 2012
(特別号)

日本核磁気共鳴学会
The Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan

会長メッセージ

1. 日本核磁気共鳴学会機関誌第3巻特別号の発行に当たり 4
朝倉 哲郎

巻頭エッセイ

1. 夜明け前の蛋白質NMR 6
河野 敬一
2. 私のNMRことはじめ 9
江口 太郎

解 説

1. 区分標識法によるマルチドメイン蛋白質のNMR解析 11
湊 雄一、上田卓見、町山麻子、嶋田一夫、岩井 秀夫
2. H⁺-ATP合成酵素サブユニット*c(E. coli)*の固体NMRによる研究 19
阿久津 秀雄
3. NMRスペクトルの多変量解析による合成高分子の一次構造解析 27
百瀬 陽、平野 朋広、右手 浩一
4. 高圧蛋白質NMR 38
赤坂 一之

トピックス

1. 高圧力NMR法で観る蛋白質の高エネルギー構造 46
北原 亮
2. FG-FMAS固体NMR測定による加硫天然ゴムのキャラクタリゼーション 51
河原 成元

若手ポスター賞受賞講演

1. 第50回NMR討論会若手ポスター賞について 60
竹腰 清乃理、朝倉 哲郎
2. Real-time monitoring of the cytidine deamination along single-stranded DNA by an anti-HIV factor, APOBEC3G 61
Ayako Furukawa, Kenji Sugase, Ryo Morishita, Takashi Nagata, Akihide Ryo, Akifumi Takaori and Masato Katahira
3. Application of paramagnetic NMR to analyses of conformations and dynamics of oligosaccharides 63
Sayoko Yamamoto, Takumi Yamaguchi, Ying Zhang, Máté Erdélyi, Christian Griesinger and Koichi Kato
4. Three Dimensional Solid-state NMR study of 7TM-Halorhodopsin 65
Hajime Tamaki, Marika Higuchi, Ayako Egawa, Masakatsu Kamiya, Takashi Kikukawa, Tomoyasu Aizawa, Keiichi Kawano, Toshimichi Fujiwara, Makoto Demura
5. Ex-situ ⁷Li MAS NMR of a lithium cobalt oxide thin film on sequential annealing 67
Yasuto Noda, Munehiro Inukai, Kazuyuki Takeda
6. The structure of retinal protein on activated state as revealed by *in-situ* photo-irradiated solid-state NMR 71
Yuya Tomonaga, Izuru Kawamura, Akimori Wada, Takashi Okitsu, Yuki Sudo, Naoki Kamo, Akira Naito

NMR基礎講座

1. 2次元NMR：フーリエ変換と共分散 73
竹腰 清乃理
2. MRIの基礎 76
巨瀬 勝美
3. 実践relaxation dispersion法 82
菅瀬 謙治

NMR史点描

1. Gorterの失敗(上) 86
寺尾 武彦

海外学会報告

1. 若手研究者渡航費助成金について 89
内藤 晶、高橋 栄夫
2. 平成23年度第2回若手研究者渡航助成による“The 4th Asia-Pacific NMR symposium”参加報告書 91
田制 侑悟
3. 国際学会参加レポート 92
玉田 大輝
4. 日本核磁気共鳴学会「若手研究者渡航費助成金」XXVth ICMRBS 参加報告書 94
小沼 剛
5. 若手研究者渡航費助成金によるXXVth ICMRBS参加報告書 95
小笠 広起
6. 若手研究者渡航費助成金(ICMRBS)参加報告書 97
北沢 創一郎
7. 日本核磁気共鳴学会「若手研究者渡航費助成金」International Carbohydrate Symposium (ICS2012) 参加報告書 99
植草 義徳
8. EUROMAR2012参加報告書 100
小松 功典

技術レポート

1. 固体NMRにおける超高速試料回転の開発と感度向上への寄与 101
西山 裕介

NMR便利帳

1. NMR装置の安全管理を再考する 106
山本 昭彦
2. 固体NMR測定のための化学シフト標準物質 ... ¹³C核に関して 110
辻 暁

NMR研究室便り

1. 東京大学薬学部 嶋田研究室 114
宝田 理
2. 新日鐵住金株式会社 先端技術研究所 116
金橋 康二

若手NMR研究会報告

1. 北海道支笏湖ユースホステルで開催された第13回若手NMR研究会報告 119
田巻 初

NMR学会よりのお知らせ

1. NMR学会の決定事項 122
2. 2012年度NMR討論会プログラム 124
3. ニュースレターの記録 143
4. 日本核磁気共鳴学会規約 170
5. 日本核磁気共鳴学会機関誌「NMR」投稿規程 174
6. 賛助会員名簿 176
7. 学会機関誌編集委員名簿(2012、2013年度) 176
8. 編集後記 177

日本核磁気共鳴学会機関誌 第3巻特別号の発行に当たり

日本核磁気共鳴学会会長
朝倉 哲郎

今年度から、2年間、日本核磁気共鳴学会の第6期会長に就任しました朝倉です。どうぞ、よろしくお願いたします。

今度、学会副会長の内藤編集委員長の下、多くの編集委員が結集、活発に活動されるとともに、執筆者各位の多大なご協力により、かくも充実した内容のNMR学会機関誌Vol.3を発行することができました。厚く御礼申し上げます。

様々な研究の分野でNMRが使われるようになって、本学会の果たす役割も益々重要になってきております。NMR討論会や様々な学会活動を通して、NMR研究者の多岐にわたる要望や期待を、いかに的確に把握し、本学会がそれに答えていくか、いかに今後のNMR研究を担う若手研究者を育てていくか、等、皆様のご意見を拝聴しながら、会員の方々の目線に立って、真正面から取り組んでまいりたいと存じます。そのため、NMR討論会はもとより、本機関誌や、ニューズレター、ホームページの充実にも多くの力を注いで参りたいと存じます。

今年度から、そのような考えに沿った、多くの企画が、新たにスタートしました。

1. NMR討論会世話人の加藤先生の下、各研究分野を網羅した新たな企画、
2. 手にとって実感される本機関誌の充実、
3. 若手ポスター賞の大幅な拡大、
4. 最優秀若手ポスター賞受賞者へのJEOL RESONANCE賞の設立、
5. 過去のNMR討論会要旨集のアーカイブ化を含むホームページの充実、
6. NMRニューズレターの新たな企画と充実、等、目白押しです。

会員の皆様には、是非、積極的に活用していただきたいと思っております。

その中で、設立当初から関わってきた若手ポスター賞の新しい試みについて、もう少し触れてみたいと思っております。

これまで、学会では、次代を担う若手研究者をエンカレッジするために、NMR討論会のポスター発表の中から、優れた若手研究者の発表に『若手ポスター賞』を贈呈してきました。この表彰制度はちょうど10年前にスタートしました。しかしながら、『若手ポスター賞』を受賞された最近の若手研究者は、主に大学や公的機関に偏ってきております。今後のNMRの発展を担う有力な若手集団は、大学や研究所の若手NMR研究者に加えて、企業でNMRを用いて研究を行う若手研究者ではないかと思っております。そのような若手NMR研究者にも、もっと積極的に応募していただき、『若手ポスター賞』を受賞して欲しいと思っております。そこで、学会では、企業でNMRを用いて研究を行う若手研究者を対象に、新たに『若手ポスター賞II』を設け、受賞者を倍増させることにしました。

すなわち、従来の大学や公的機関の若手研究者、企業でNMRを開発する若手研究者を対象とした『若手ポスター賞I』と、企業でNMRを用いて研究を行う若手研究者を対象とした『若手ポスター賞II』を設け、審査基準を若干変えて選考することにしました。

ありがたいことに、本年度、JEOL RESONANCE (株) から賞の申し出があり、また、個人の基金から賞をサポートしたいとの申し出もあり、若手NMR研究者が素晴らしい研究をすれば、報奨も含め、高く評価される状況が設定されました。

『若手ポスター賞II』については、今年度、開始したばかりでもあり、認知度もまだ高くはありませんが、企業でNMRを使用する若手研究者から素晴らしい研究を発表していただき、是非、賞をとっていただきたいと思っております。

私自身、NMRに関わって、40年が過ぎました。どれほど多くのことをNMRを通して学んだことでしょうか、今、振り返って考えますと、NMR研究を続けていて本当に良かったと思っております。研究か

ら何を学ぶかは、一人一人によって違うと思いますが、私の感ずるNMRの魅力や可能性を、是非、若手のNMR研究者の皆さんに伝えていきたいと思っております。

理事の方、評議員の方は、NMRの能力を十分に活用され、素晴らしい研究成果につなげられて

きた方ばかりです。皆様と力を合わせて、多くのNMR研究者が様々な分野で、生き生きと活躍され、素晴らしい成果が得られるよう、サポートしていきたいと思っております。

よろしく、お願いいたします。

2012年秋

夜明け前の蛋白質NMR

北海道大学大学院先端生命科学研究院

河野 敬一

私が最初に参加したNMR討論会は、大阪で開かれた第11回でした。今年が第51回ですから、長い年月が流れたこととなります。某先生がその頃を振り返って仰った言葉のように「この頃は『NMRを専門にする』と言うことは『飯が食えなくなる』こととほとんど同義語であった」のです。予想通り波乱万丈の人生になりましたが、「コツコツと頑張っていればいつかは報われる」という言い古された言葉の実例として若い人たちの励みになればと思い、私のこれまでを振り返ってみたいと思います。

1971年、発足したばかりの大阪大学蛋白質研究所京極研に卒研生として入りました。蛋白質にあった装置はJEOL 4H-100であり、電磁石を用いるCWの真空管式のもので生体物質の測定には厳しいものがありました。その頃欧米には既に超伝導磁石を用いる高磁場NMRが普及しつつありましたが、日本には京大工学部石油工学科にCWのVarian HR-220が1台あるのみでした。森島績先生のご厚意で随分使わせていただきましたが、遠出しての徹夜実験は厳しいものがありました。この頃森島研にいた同期の犬伏俊郎さんは後にNIHの奨励研究生として渡米され、ヘム蛋白質からインビボNMR、MRIに研究対象をシフトし、帰国後は苦労されたようですが、現在は滋賀医大でMRIの権威として活躍しています。

100MHzでもできる研究は10残基ぐらいが限界でしたので、私もペプチドの構造研究をやっていました。塩野義の東海林純一先生にいただいたトリオスチンは溶媒によって2つのコンフォーマーが共存したり交換が速くなったりする興味深い抗菌ペプチドでした^[1]。蛋白質研究所ですから、蛋白質をやったのですが、当時最先端の研究をしていたスタンフォード大のJardetzkyらは、リボヌクレアーゼAの活性部位の4個のHisのC-2プロトンを残基置換や化学修飾によって帰属して活性発現モデルを提案していましたが、最初の帰属は間違えていました。連鎖帰属法の開発されてい

なかった当時、この問題に対する唯一の解決策がこの頃蛋白質におられた松尾壽之先生(後に循環器病研究センター研究所長、学士院賞)と荒田洋治先生の協力で開催され、リボヌクレアーゼT₁に適用されました^[2]。HisのC2プロトンは中性~アルカリ性で熱処理すると重水中のDと交換されて信号が小さくなりますが、その速さは環境によって異なります。同じ実験をトリチウム水溶液で行うと、3個のHisの放射能が異なるリボヌクレアーゼT₁が得られます。これをプロテアーゼで分解してフラグメントを分取同定し、個々のHisの放射能の定量をして重水素置換率と比較すれば、HisのC-2プロトンを帰属できるという方法です。荒田先生はこの実験のNMR測定を日本ではなく、アメリカのスタンフォード大学で行いました。またこの研究は、並行して、当時NIHにおられた神藤平三郎先生によってリボヌクレアーゼSを対象として行われました^[3]。何れの場合も測定は海外だったことから、当時の日本の厳しい研究環境が窺われます。

博士課程に入ってからやっとJEOL PFT-100が蛋白質に入りました(今950MHzが入っていることは隔世の感があります)。この装置で、ヒスチジン、ポルフィリン、フラビン等の含素生体物質の¹⁵N-NMRを測定しました。¹⁵N-NMRはきわめて低感度で観測困難な核種ですが、¹⁵N標識することによってこの問題を克服し、X線解析等では困難なプロトネーション状態(互変異性)の解析に¹⁵N-NMRが有力な手段であることを示しました^[4~6]。

フラビン研究が縁で博士課程修了後名古屋大学医学部に研究生として移りました。装置はなく、名大農学部、分子研、蛋白質研に通って測定しましたが、大変苦しい時期でした。3年目にJEOL FX-90Qが入りました。この頃、三和化学研究所から伊倉光彦さんが派遣されてきてしばらく一緒に研究をしました。その後北大理の引地研に大学院生として帰った伊倉さんが大きな発展をするとは、NMRが夜明け前の当時、誰も想像できなかったと思います。

その後九州大学歯学部の手助になりましたが、またしても装置はなく、蛋白質や生理研に福岡から通う厳しい時代が続きました。その頃、国内に270、360、500MHzのNMRが徐々に普及していきました。「200MHzで良いから手許に装置が欲しい」というのは痛切な願いでした。“The darkest hour is always just before the dawn”という諺があります。8年目にやっとBruker AM-400が入りました。歯学部に入った例は世界でも多くないと思いますが、MRIが臨床に広く用いられ始めた時期であり、その基礎研究としての期待があったかもしれません。ビュートリッヒによって開発された「NMRを用いる蛋白質の立体構造解析法」を通じて、蛋白質科学の層の厚い九州大学のいろいろな先生方と共同研究できたことは幸せでした。カプトガニ血液蛋白質の研究を岩永貞昭・川畑俊一郎先生と(図1)、大野素徳・下東康幸先生とキモトリプシン阻害ペプチド等の研究を、井本泰治・植田正先生とリゾチームの研究を行いました。1993年7月、米国BethesdaにあるNIHのNational Institute of Dental ResearchのDr. Dennis A. Torchiaの研究室に短期滞在しました。Torchiaは緩和解析の大家ですが、当時Bax、Clore、Gronenbornらとエイズ蛋白質の立体構造解析の研究をしていたので、緩和解析から離れた理由をお尋ねすると、「NIHでは、難しい緩和解析の理論ではなく、蛋白質の形を見せることが評価につながる」と嘆いておられました。

1994年、リゾチーム研究が縁で北大理学部高分子学科新田勝利研究室の助教授として着任しました。日本の南端から北端への異動でしたが、基礎研究が思い切りできる環境は何にも代えがたいものでした。NMR研究の大家である引地邦男先生がおられて、装置としては導入されたばかりのJEOL α -600、 α -500、 α -400がありました。それから18年が経過しましたが(途中富山医科薬科大学薬学部部に6年間転出)、これらの装置はいまだに更新されずにいます。こうした基盤的研究用装置の更新も喫緊の課題ですが、プロジェクト研究で導入された大型装置についても維持費が適切に措置されることが、税金で賄われた装置の有効利用に是非とも必要です。関係各位のご配慮をお願いしたいと思います。

札幌は、特に夏季は、清涼の地であり学会開催に適していることもあって、私達の研究室は多くの学会をお手伝いしてきましたが、第13回若手

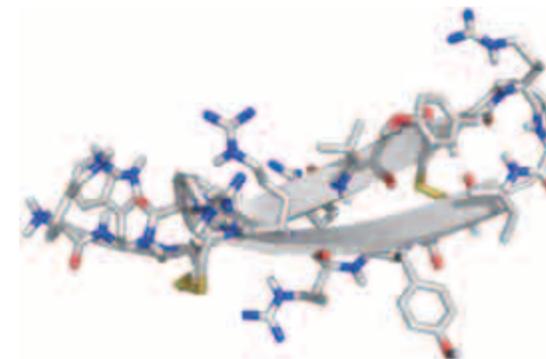


図1 Solution structure of tachyplesin I.^[7]

NMR研究会(代表:田巻初、支笏湖、2012年)、第9回若手NMR研究会(代表:梅津喜崇、小樽、2008年)、第3回若手NMR研究会(代表:三浦和紀、富山、2002年)では、私が若手のときにはこのような集会が成立しえないほど層の薄かった分野がこれほど多くの若者によって受け継がれていることに感銘を受けました。

1998年、富山医科薬科大学薬学部教授に異動しました。富山で盛んな製薬業界の期待もあって、Bruker Avance-800が入りました。40年間に及ぶ長い装置飢餓時代からやっと抜けだした日本は、「たんぱく3000」に代表される大きなプロジェクトが走り、自由に研究が展開できる時代になりました。私が学生だった時代には2次元NMRすら開発されておらず、私が停年になる頃ギガヘルツの装置が開発されると予想されており(これは当たっていました)、それを用いても蛋白質の構造決定は困難だろうと考えられていました(“食えない学問”だったわけです)。その後、多くのイノベーションが進み、NMRの分野でノーベル賞が3回授与されました。私の名古屋時代に、測定に通っていた分子研で、分光学の先輩に「NMRは終わった学問だろうか?」と言われて悔しい思いをしたのが嘘のようなです。永山国昭先生のSECSY、甲斐荘正恒先生の同位体標識、伊倉さんの多核多次元NMR、等生体系だけでも日本人の寄与は大きなものがありますが、夜明け前の時代に蓄積された努力が結実したものでした。今の生体系NMRでは「分子量の限界」に代表される停滞感がありますが、そういったときこそ、こつこつ力を蓄えることが大切だと思います。固体NMRのイノベーションに大いに期待しています。

多くの方々に支えられて今日を迎えることができました。北大の学生だった相沢智康(現在の研

究室の准教授、日本核磁気共鳴学会 会計監査)、水口峰之(富山大学薬学部教授)、小柴琢己(九州大学院理准教授)、栃尾尚哉(理研GSC)、藤谷直樹(北大院先端生命)、梅津喜崇(北陸先端大)の諸氏、富山医科薬科大の学生だった齊藤伸(秋田県立脳血管研究センター)、河野隆英(ミネソタ大)の諸氏、北大院先端生命の出村誠教授および同研究室の神谷昌克助教、菊川峰志助教、北大理学部NMR研究室の熊木康裕技官、その他多くの方々に感謝します。

参考文献

- [1] Kyogoku, Y., Higuchi, N., Watanabe, M., and Kawano, K., (1979) Conformer equilibria of triostin A and its conformer-specific interaction with nucleic acid bases. *Biopolymers* **20**, 1959-1970.
- [2] Arata, Y., Kimura, S., Matsuo, H., and Narita, K. (1976) Proton magnetic resonance studies of ribonuclease T1. Assignment of histidine-40 peak and analysis of the active site. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **73**, 133-140.
- [3] Shindo, H., Hayes, M.B., and Cohen, J.S. (1976)

- Nuclear magnetic resonance titration curves of histidine ring protons. A direct assignment of the resonances of the active site histidine residues of ribonuclease. *J. Biol. Chem.* **251**, 2644-2647.
- [4] Kawano, K., and Kyogoku, Y. (1975) Nitrogen-15 nuclear magnetic resonance of histidine. The effect of pH. *Chem. Lett.*, 1305-1308.
- [5] Kawano, K., Ohishi, N., Suzuki, A.T., Kyogoku, Y., and Yagi, K. (1978) Nitrogen-15 and carbon-13 nuclear magnetic resonance of reduced flavins. Comparative study with oxidized flavins. *Biochemistry* **17**, 3854-3859.
- [6] Kawano, K., Ozaki, Y., Kyogoku, Y., Ogoshi, H., Sugimoto, H., and Yoshida, Z. (1978) Nuclear magnetic resonance spectra of nitrogen-15 enriched octaethylporphyrin and its derivatives. *J. Chem. Soc. Perkin II*, 1319-1325.
- [7] Kawano, K., Yoneya, T., Miyata, T., Yoshikawa, K., Tokunaga, F., Terada, Y., and Iwanaga, S. (1990) Antimicrobial peptide, tachyplesin I, isolated from hemocytes of the horseshoe crab (*Tachyplesus tridentatus*). NMR determination of the β -sheet structure. *J. Biol. Chem.* **265**, 15365-15367.

巻頭エッセイ

私のNMRことはじめ

大阪大学 理事・副学長

江口 太郎

私は1966年に大阪大学理学部化学科に入学し、1969年に千原秀昭先生の研究室に配属になった。当時の千原研の重要な研究テーマは分子運動だった。

千原先生の恩師はX線結晶学の父といわれた仁田勇先生である。仁田先生は物質の構造とエネルギーを非常に重要視されており、千原研でも固体の構造と分子運動との関連について研究を進めていた。日本でも早い時期にNMRを分子運動の研究に適応したグループだった。当時は、もちろん電磁石で、広幅NMRといわれ、パルスNMR装置は手作りだった。対象核種はプロトンでスピナー格子緩和時間 T_1 の温度変化を測定した。私にNMRの手ほどきをしてくれたのが東大出身の曾田元博士だった。大学紛争が始まっていた頃だが、二人で六本木にあった物性研(柿内研)に泊まり込みで測定に行ったことを思い出す。

私が最初にテーマとして取り組んだのは、有機分子固体中のメチル基の再配向運動だった。当時、メチル基等の回転と再配向運動の区別をつけている研究者は、化学の世界ではあまりいなかったように思う。このメチル基再配向の相関時間と活性化エネルギーを T_1 の温度変化で測定した(図1)。これが塩化メチルのデータで、 T_1 極小のところ、相関時間がだいたいナノ秒になる。この極小が現

れる温度を横軸にして、縦軸に活性化エネルギーをプロットすると、いろいろな有機化合物の中でメチル基の再配向運動には、図に示すような直線的な相関があることがわかった。

次に興味を持ったのは、分子全体の等方的再配向運動である。分子が等方的に速く回転すると球と同様になり、最密充填構造(face centered cubic structure, f.c.c.あるいはhexagonal closest packed structure, h.c.p.)をとる。その典型例が柔粘性結晶である。この柔粘性結晶というのはどういう条件のときに生成するかということを探求した。

まずシラン(SiH_4)を取り上げ、 T_1 の温度依存性を精密に測定した(図2)。極低温では分子全体がトンネルして回るという現象が見えてくる。それから分子が球状に再配向するようになり、ここで柔粘性結晶相に移って自己拡散運動が始まる。シラン分子で不思議なのは、柔粘性結晶相にもかかわらず、body-centered tetragonalという、隙間が多い構造になる。これがメタン(f.c.c.)と違うところである。

総まとめとして、曾田元さんが日本語のレビューを書いた。要するに、柔粘性結晶相になる物質では、大きさが1nm程度の分子が1nsで揺らぐと分子どうしが球に見えるようになるという経験則を導き出した(図3)。



河野 敬一 (かわの・けいいち)

昭和47年3月 大阪大学理学部化学科卒業

昭和52年3月 大阪大学大学院理学研究科高分子学専攻博士後期課程単位取得退学

昭和55年2月 九州大学歯学部 助手

平成6年4月 北海道大学理学部高分子学科 助教授

平成10年4月 富山医科薬科大学薬学部 教授

平成14年 日本核磁気共鳴学会会員(平成19-20年、平成23-24年、同学会評議員)

平成16年4月 北海道大学大学院理学研究科生物科学専攻 教授

平成22年4月 北海道大学大学院先端生命科学研究院 教授

平成24年3月 北海道大学 停年退職

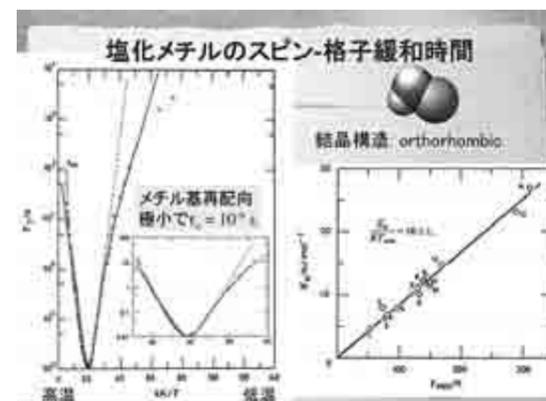


図1 メチル基の再配向運動

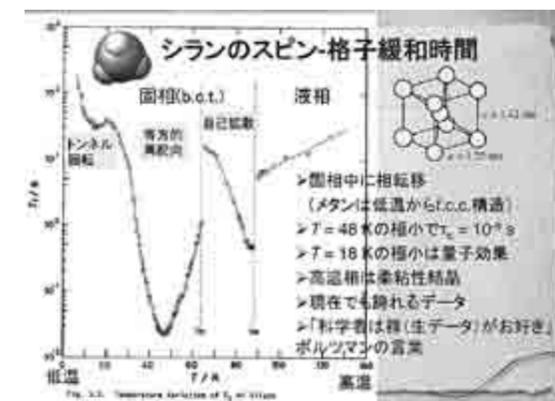


図2 シランの分子運動

その次は、ガラス性結晶を研究対象にした。エタノール分子がnsオーダーで等方的に揺らぐと球状になって柔粘性結晶(準安定相)になる。隣の研究室の関集三先生のグループが、こんな柔粘性結晶相でも、ものすごく急速に冷やすと分子配向が無秩序に凍結したガラスになることを発見し、ガラス性結晶と命名した。私はその中で分子運動が他の結晶相とどう違うかということ、NMRを使って調べた。

以上が博士課程のころの仕事である。その後、1979～81年にかけて米国イリノイ大学のJiri Jonas教授の研究室でポストドクを経験。世界初の高圧高分解能NMRプローブの開発を行い、シクロヘキサンの活性化体積(遷移状態)を決定した。さらに、イギリスのB.T. Heaton教授との共同研究で、溶液中の遷移金属カルボニルクラスターの高圧下での動的挙動を調べた。これらの高圧NMRの経験から、2000年ころからは高圧Xe NMRの研究も行った。

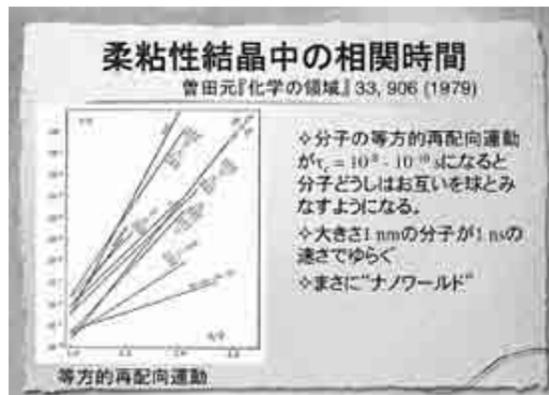


図3 柔粘性結晶の分子運動

これらは、細孔性物質中でのXeの分子凝集状態とダイナミクスの研究として整理できる。つまり、研究生活のはじめから一貫して分子運動を追いつけたことになる。その間、多くの人たちからのご支援・ご協力を得てきたことをこの場を借りて感謝したい。



江口 太郎 (えぐち・たろう)

大阪大学 理事・副学長

〔経歴〕1970年大阪大学理学部化学科卒業。1976年大阪大学大学院理学研究科博士課程単位取得退学。同年大阪大学教養部助手。以後、助教授を経て、1994年大阪大学理学部助教授、2002年同教授。同年に総合学術博物館教授に異動。2005年同上館長。2011年現職に就任。2002年日本核磁気共鳴学会会員(2004年～2005年、2009年～2010年 同学会評議員)。

〔専門〕物理化学・博物科学。

〔趣味〕読書・展覧会巡り等。

解説

区分標識法による マルチドメイン蛋白質のNMR解析

¹東京大学大学院薬学系研究科

²Institute of Biotechnology, University of Helsinki

湊 雄一¹、上田卓見¹、町山麻子¹、嶋田一夫¹、岩井秀夫²

1. マルチドメイン蛋白質のNMR解析

蛋白質のNMR解析は、同位体標識法の確立によって格段に進歩してきた。従来型の構造生物学的解析では、如何にNMR解析に適したドメインを切り出して立体構造等の解析を行うかが重要であった。しかし、近年、構造解析に適した単離ドメインの構造解析だけでは、本来の蛋白質全体の機能を理解できない場合が増えてきた。これは、近接効果や立体障害のため、蛋白質全体と単離したドメインでは、標的分子との結合様式に違いが生じる可能性が高いためである。また、複数のドメインが協奏的に作用することにより、初めて標的分子に作用する場合もあるためと思われる。特に、細胞内シグナリングを司る蛋白質の多くは、マルチドメインと呼ばれる、局所的に構造を形成したいくつものドメインがリンカーでつながった、運動性に富むリンカー領域を複数含む点特徴的な構造を形成している。したがって、このようなマルチドメイン蛋白質の作用機序の解明や、変異導入による機能改変、さらには立体構造に基づく創薬を目指す上では、今後システム全体を構造生物学的に解析するアプローチがきわめて有用である。運動性に富むリンカー領域を含む蛋白質の結晶化は困難であることが多いため、結晶化が不要で、生理的条件と同じ溶液中での解析が可能で、更には動的構造の解析も可能であるNMR法は、マルチドメイン蛋白質の構造解析における主要な手法となることが期待される。

マルチドメイン蛋白質は、分子量が大きいと、線幅増大とシグナルの縮重がNMR解析の大きな課題である。特に、シグナルの縮重は、相溶性が高いドメインが繰り返されることがあるため、最大の課題である。したがって、シグナルの縮重を克服するため、特定の原子を選択的に安定同位体標識することにより、機能上重要な原子のシグナルを選択的に観測することがきわめて有効である。

現在までに、ポリペプチド鎖の一部のみを標識する区分標識法、特定のアミノ酸残基のみを標識するアミノ酸選択的標識法、特定の一残基のみを標識する残基選択的標識法等が多数開発されている。アミノ酸選択的標識法は比較的簡易な標識方法であるが、帰属を行うには多数のサンプルの調製が必要である^[1]。その点、区分標識法では、シグナルの縮重を軽減するだけでなく、従来の三重共鳴法を用いて帰属することも可能である。さらに、マルチドメイン蛋白質では、区分標識法を適用することにより、機能上重要なドメインのシグナルを網羅的に観測しながら、他のドメインのシグナルを除去することが可能となる。したがって、区分標識法は、マルチドメイン蛋白質を解析する上できわめて有効な手法である。現在、区分標識法では、主に二つのProtein Ligation手法が使われている。一つは、Expressed Protein Ligation (EPL) 法^[2]、もう一つはProtein Trans-Splicing (PTS) 法^[3]である。いずれも、プロテインスプライシングとよばれる現象を利用するのが特徴である。また、本稿では詳細は割愛するが、幅広く利用されるに至っていないものの、Sortase, Subtiligase等の酵素的Protein Ligationを利用した方法もある^[4]。

2. プロテインスプライシングの原理^[5]

プロテインスプライシングの現象は東京大学の安楽泰宏研究室で最初に発見された。そのRNAスプライシングとの相溶性から、蛋白質イントロンとも呼ばれ、通常同一分子内での反応である(cis-splicing)。その模式図を図1aに示す。プロテインスプライシングでは、蛋白質イントロンであるインテイン(intein)が、その宿主蛋白質を二つのエクステイン(exteins)に分断した一本鎖として、共に蛋白に翻訳される。次に、inteinが立体構造を形成すると、一連のスプライシング反応によりinteinが切り出され、同時にインテイン両端であるN末端

受領日: 2012年8月6日 受理日: 2012年8月13日 編集委員: 上田卓見

とC末端フラグメント (exteins) がペプチド結合で繋がった宿主蛋白質が切り出される。また、**図1b**に示すように、exteinとinteinのN末端フラグメントが繋がったポリペプチド鎖と、inteinとexteinのC末端フラグメントが繋がった二本の別々のポリペプチド鎖が翻訳された上で、両者が出会ってinteinの立体構造が形成されると、inteinの切り出しおよび二本鎖に分割された宿主蛋白質の形成が進行する。この現象は*trans*-splicingと呼ばれる。

3. Expressed Protein Ligation (EPL) の原理^[6]

EPLの模式図を**図2**に示す。C末端にチオエス

テル基を持つペプチドと、システイン残基で始まるペプチドは、化学選択的にペプチド結合を形成させることができる。これはNative Chemical Ligation (NCL) と呼ばれる。蛋白質工学的手法でリコンビナント蛋白質を組み合わせてNCLを行うことはExpressed Protein Ligation (EPL) と呼ばれることが多い。EPLは通常インテインとの融合蛋白質として発現されるためIntein-mediated Protein Ligation (IPL) と呼ばれる。EPLは、New England Lab社のTWIN systemといった市販ベクターを使用して、比較的簡便に導入することが可能である。TWINシステムでは、標識する

蛋白質を、N末端フラグメントと、システイン残基から始まるC末端フラグメントに分けた上で、前者のC末端には、C末端のアスパラギン残基をアラニンに変異したintein変異体を、後者のN末端には、N末端のシステイン残基をアラニンに変異したintein変異体を付加したコンストラクトを作製して、別々に調製する。この際、一方にのみ安定同位体標識を施す。次に、両者を還元剤存在下で混合すると、intein変異体による切断反応が進行して、C末端にチオエステル基を持つN末端フラグメントと、システイン残基で始まるC末端フラグメントが生成する^[6]。続いて、*trans*-esterificationおよびS-N acyl shiftが進行して、N末端フラグメントとC末端フラグメントがペプチドで繋がることで区分特異的標識された蛋白質が作られる。なお、EPLでは、固相合成したフラグメントを利用したり、N末端にシステイン残基を持つC末端フラグメントをプロテアーゼ分解により調製することも可能であるため、変性条件下でも反応を進めることが可能であり、自由度が高い。

4. Protein Trans-Splicing (PTS) の原理^[7,8]

PTSの模式図を**図3**に示す。標識する蛋白質を、N末端フラグメントと、システイン残基から始まるC末端フラグメントに分けた上で、それぞれC末端とN末端に、inteinのN末端フラグメントとC末端フラグメント付加したものを、別々に調製する。この際、一方にのみ安定同位体標識を施す。次に、両者を混合すると、inteinの構造形成に伴って*trans*-splicing反応が進行して、標識する蛋白質

のN末端フラグメントとC末端フラグメントが繋がる。以上により、区分特異的標識が達成される。

PTSでは、EPLとは違い他の試薬が必要でないため、細胞内で蛋白質を繋ぐことができる。したがって、選択標識を発現大腸菌の中で行うことも可能である^[9]。**図4**に示すように、この方法では、PTSに必要な二種類の前駆体ポリペプチド鎖をコードする遺伝子を、プロモーター及び抗生物質耐性が異なる別々のプラスミドに組み込んだ上で、その二つのプラスミドを同じ大腸菌に導入する。次に、安定同位体を含む一番目の培地で一方のプロモーターのみに誘導をかける。さらに、非標識二番目の培地に交換することで最初の発現を抑え、もう一方のプロモーターの誘導をかける。その結果、両ポリペプチド鎖の一方のみに標識が施され、さらに大腸菌の中でPTS反応を進行する。以上により、選択標識が達成される。この方法を、*in vivo* PTS法と呼ぶ。

5. CheA の区分標識

このように、区分標識法が幾つか報告されているが、いずれの方法も適用例がまだ少ない。これは技術的なハードルが高く、またどういったアプローチを選択するのが良いかという指針も明確ではないためであると思われる。我々は、ダイマーで分子量14万のマルチドメイン蛋白質であるCheAについて、区分標識体を使ったNMR解析によりその反応機構を解明することを目指して、EPLとPTSの両手法を用いて区分標識を施した^[10]。同じ蛋白質を両方の方法を用いて区分標識をした例

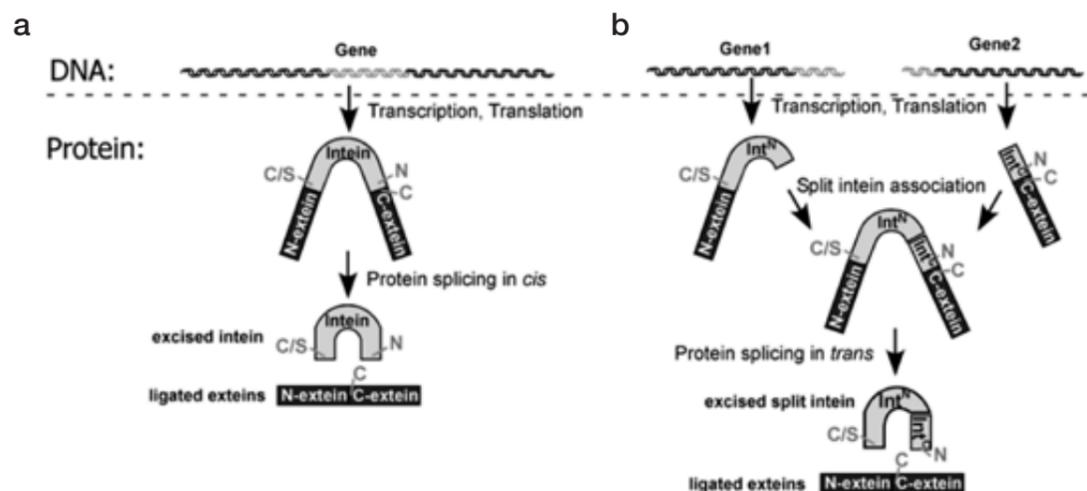


図1 プロテインスプライシング反応の模式図
(a) *cis*-splicing, (b) *trans*-splicing.

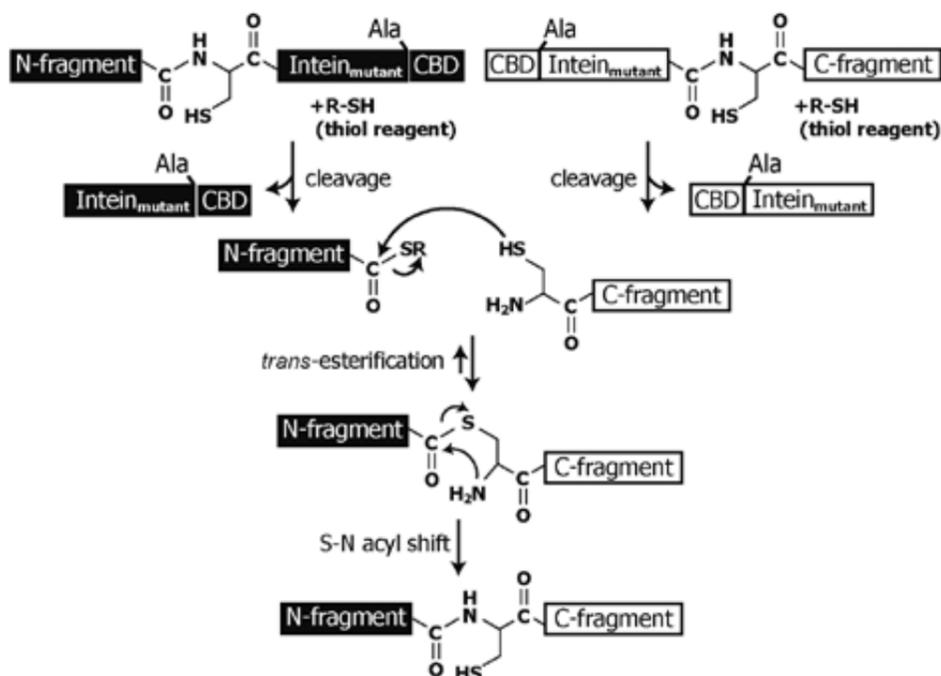


図2 EPLの模式図

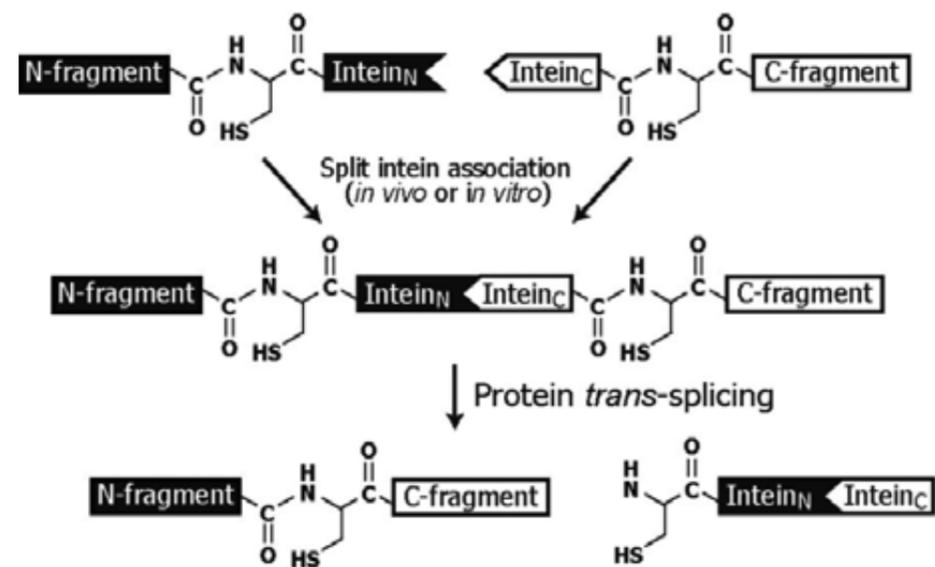


図3 PTSの模式図

は過去にないため、今後、区分標識を試みる研究者の参考となることを望む。

原核生物の走化性における細胞内シグナリングを制御する蛋白質であるCheAは、P1からP5の5つのドメインから構成されるマルチドメイン蛋白質である。P3ドメインを介してダイマーを形成することが知られている。本研究では、リン酸化を受けるHis48が存在するP1ドメインを選択的に標識することとした。

5-1. EPL法

最初に、市販のpTWINベクターを用いて、EPL法を適用した。TWIN systemでは、intein変異体にChitin binding domain (CBD)が付加している。これにより、各フラグメントをChitinビーズに固定化した上で、不純物を洗浄した上で、還元剤を含むバッファーを添加することにより、intein変異体の切断と除去、更にはC末端のチオエステル修飾を一度に行うことが可能である。

このシステムでも、目的蛋白質を分断・接合する部位およびその近傍の配列は、各フラグメントの収量や安定性に大きく影響する。加えて、フラグメントの末端の配列は、ライゲーション反応およびintein変異体による切断反応の効率に大きく影響することが知られている^[11]。そのため、通常、収量を増やすためにやむを得ず接合部位に変異を導入することが必要となり、この変異が、最終産物の活性に影響しないことを確認する必要がある。したがって、接合部位の位置および配列を最適化

することが必須である。

EPLでは分断する部位のC末端側をシステイン残基にする必要があることも考慮して、ライゲーション部位として、P1, P2ドメイン間のリンカー上に位置する、K146-S147, Q153-S154, R155-S156, Q157-S158の4箇所を検討した。P1ドメインのC末端に*Mxe* GyrA インテインを付加した発現系を構築し、大腸菌にて発現させた。その結果、P1 (Q153)については、チオエステル化されたP1ドメインを1L培養あたり40mg得ることができた。また、システイン残基から始まるP2-5ドメインの調製のため、C末端側のP2-5ドメインのN末端のSer残基をCysに置換し、さらにそのN末端に*Ssp* DnaB インテインを付加した発現系を構築し、発現させた。その結果、(S154C) P2-5については、1L培養あたり20mgの、システイン残基から始まる(S154C) P2-5を得ることができた。それ以外のコンストラクトでは、精製する以前にインテインの切断が培養中に生じてしまったため、CBDを利用したアフィニティー精製ができないという問題が生じた。

次に、ライゲーション反応条件を検討した。0.8mMのP1(Q153)および0.1mMの(S154C)P2-5を、還元剤である2-mercaptoethanesulfonic acidを200mM添加した条件で混合し、2日間反応させた。しかし、これらの条件下ではライゲーション効率は10%程度にしか及ばなかった(図5a、レーン1-4)。そこで、チオエステル化されたN末端フラグメントの、C末端のアミノ酸残基の種類が反応

効率に重要であるという報告^[12]に基づいて、P1のQ153にGly変異を導入したところ、P2-5 (S154C)とのライゲーション反応効率を40%程度までは向上させることができた(図5a、レーン5)。そこで、ライゲーション反応液から、ゲルろ過クロマトグラフィーで未反応のP1 (Q153G)を除去した上で、陰イオン交換クロマトグラフィーで未反応の(S154C) P2-5を除去した。その結果、全長CheAダイマーの収量は、最終的に1L培養あたり0.2mgであった。収量が低いのは、未反応の(S154C) P2-5が、P3ドメインを介して、生成した全長CheAとヘテロダイマーを形成してしまい、その分離作業により全長CheAダイマーの収率が著しく低下してしまうことに起因する。しかし、精製を繰り返せば、NMR測定が可能量の試料を一つ調製することは可能であると考え、P1ドメインを²H, ¹⁵N標識、P2-5ドメインを非標識とした試料を調製し、¹H-¹⁵N TROSY-HSQCスペクトルを測定した。その結果、均一標識体よりも、縮重が大幅に改善されたスペクトルが得られた(図6a、b)。しかし、さらに構造解析を行うためには収量が不十分であり、また収量の増大には、かなりの時間と労力がかかるものと予想される。

5-2. in vivo PTS法

次に我々は、*in vivo* PTS法を検討した。PTS法では、用いるsplit inteinの性質が、フラグメントの発現量や安定性、およびライゲーション効率に大きく影響する。本研究では、現在一番反応効率が良いとされる*Npu* DnaE インテインを用いた^[13]。*Npu* DnaE インテインは、既存のsplit inteinと比較して、リフォールディングが不要であること、およびインテインのC末端フラグメントが15残基と短く、これを付加した蛋白質のフラグメントの可溶性を

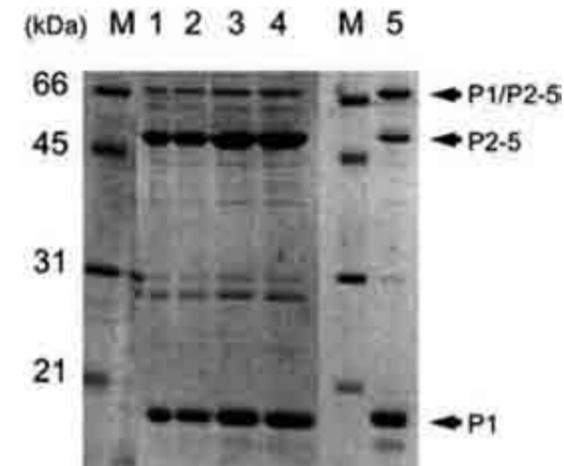


図5 EPL法によるライゲーション反応(論文[10]より抜粋)

レーン1-4: P1 (Q153) と (S154C) P2-5のライゲーション反応の結果。反応時間や温度などを検討したが、反応効率は向上しなかった。レーン5: P1 (Q153G) と (S154C) P2-5のライゲーション反応の結果。レーン1-4と比べ、未反応のP2-5に対して、P1/P2-5のバンドが濃くなっており、反応効率が増大したことが示された。

損ないにくい点の特徴である。加えて、split intein間の親和性が強い(K_d=3nM)、低濃度でライゲーション反応が進行しやすいことが期待される。なお、*Npu* DnaE インテインの遺伝子を持つプラスミドは、非営利団体であるAddgeneより入手することができる(http://www.addgene.org/Hideo_Iwai)。

PTS法では、切断部位の検討は行わずL141-S142とした。P1 (L141)のC末端2残基にGly-Ser、(S142) P2-5のN末端5残基にCys-Phe-Asn-Gly-Thrの変異を導入した。このうち、Cys-Phe-Asnは、*Npu* DnaE インテインのスプライシング活性を高く維持するために導入したものであり、残りの4残

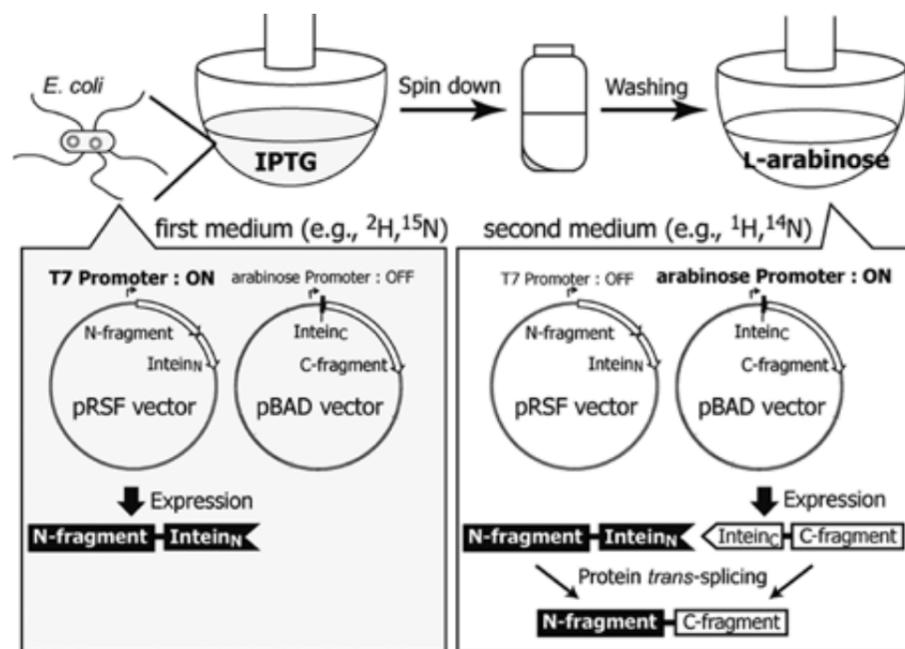


図4 *in vivo* PTS法の一例

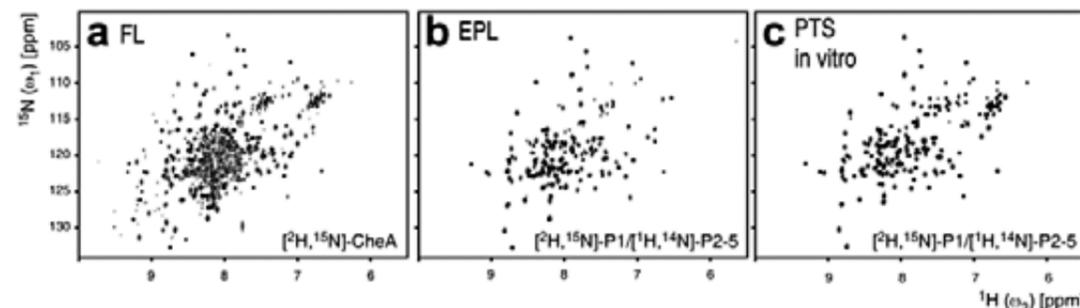


図6 EPL法、PTS法により調製した、区分標識CheAの¹H-¹⁵N TROSY-HSQCスペクトル(論文[10]より抜粋)

(a) CheA全長のスペクトル。¹Hの化学シフト値8ppm付近のシグナルが著しく縮重している。
(b) EPL法により調製した、^{[2}H, ¹⁵N]-P1(Q153G)/^{[1}H, ¹⁴N]-P2-5のスペクトル。
(c) *in vitro* PTS法により調製した、^{[2}H, ¹⁵N]-P1/^{[1}H, ¹⁴N]-P2-5のスペクトル。
(b)、(c)ではシグナルの縮重が改善されている。

基はcloning artifactである。P1を、IPTG誘導性のT7 promoterを有するRSFベクターに、P2-5を、RSFベクターとは異なる複製起点と抗生物質耐性を有する、アラビノース誘導性のBADベクターにそれぞれ導入した。

両発現系を大腸菌細胞内に導入し、発現誘導を行ったところ、IPTGではP1が、アラビノースではP2-5が誘導され、両方で誘導すると、両者のライゲーション産物が生成した(図7a、レーン3, 4)。精製後の収量は、2-20mg程度とEPL法より多く、またスケールアップが容易であると予測された。また、cloning artifactであるP1のGly-Ser、P2-5のGly-Thrを元の配列に戻した発現系を構築し、ライゲーション反応を行った。その結果、収量に大きな影響を与えずに、変異導入残基を3残基まで問題なく縮小できることが明らかとなった。また、3-7残基の変異が導入された、いずれのライゲーション産物についても、野生型と同等のシグナル伝達活性を有していることを確認した。

本手法で実際に区分選択標識を行った結果、EPLと同様、スペクトルの縮重は解消された。しかし、質量分析法と¹H-1Dスペクトルから、非標識のライゲーション産物が、50%程度混在していることが見積られた。これは、IPTGによって発現したT7 RNA polymeraseが培地中に残ることにより、T7 promoterが培地交換後も完全には遮断できないためであると考えた。このような非標識体の混入は、NMRシグナルを観測するだけの実験であれば問題ないが、転移交差飽和法^[14]のよう

な、高い標識率が要求される実験では問題となる。

5-3. *In vitro* PTS法

そこで次に、同位体が混ざらない*in vitro* PTS法も検討した。*in vitro* PTS法では、二つのフラグメントを別々に発現させた上で、*in vitro*で混合する。そのため、*in vivo* PTSとは異なり、標識率の低下が生じない。*in vivo* PTSで構築したコンストラクトをそのまま使用して、P1、P2-5の各フラグメントを発現・精製し、0.5mM TCEP存在下で反応させた。その結果、12時間後には70%程度の反応効率でライゲーション産物が生成した(図7b)。収量は、1L培養あたり3.6mgであった。P1ドメインを²H、¹⁵N標識、P2-5ドメインを非標識とした試料の¹H-¹⁵N TROSY-HSQCスペクトルは、EPL法で調製した試料のスペクトル(図6b)と、リンカー部分を除いてほぼ一致した(図6c)。

6. 考察とまとめ

我々は、EPL法、PTS法という2種類の異なる方法を用いて、CheAのドメイン区分選択標識体の調製およびNMRスペクトルの取得に成功した。

CheAでは、未反応フラグメントがライゲーション産物とヘテロダイマーを形成して、収量を低下させるため、特に高いライゲーション反応効率が必要とされた。EPL法では、P1(Q153)のC末端にGly変異を導入することで、反応効率を40%程度まで向上させることができたが、これ以上反応効率を向上できなかった。低い反応率は、CheAの構造的な特徴や、CheAが高分子量蛋白質であるため

に、反応時のフラグメント濃度を高めるのが難しかったことに由来すると考えている。EPLのライゲーション反応の効率を最適化するためには、反応時間、温度、ライゲーション部位、フラグメント濃度、還元剤や添加物の濃度など多岐にわたる条件検討が必要であり、時間と労力のかかるものであった。市販のpTWIN systemを用いたEPLでは、CheAの切断部位によっては、培養中のインテイン切断により精製ができなかったため、複数の切断部位を試みるが必要であり、作業をさらに複雑にした。

一方、PTS法では、*in vivo*、*in vitro*の双方において、高い反応効率と収量で全長CheAを調製することができた。さらに、フラグメントの精製が不要な*in vivo* PTS法では、調製にかかる時間および労力が少なかった。*in vivo* PTS法では、標識率が低い点が問題となったが、*in vitro* PTS法により代替することができた。したがって、CheAの区分標識体の調製には、容易で再現よく調製ができるPTS法が有効であった。

PTS法の欠点は、インテインが立体構造を形成しないとライゲーション反応が進まないため、*in vitro* PTS法では両方、*in vivo* PTS法でも少なくとも一方のフラグメントが可溶でないと適用が困難である点である。両フラグメントを変性下で精製することも可能であるが、その場合、両者の巻き戻しができるかどうかが必要である。一方、EPL法では、変性剤存在下で不溶性のフラグメント同士をライゲーションさせた上で、全長を巻き戻すことが可能である。また、いずれの方法でも、分断・接合部位に変異を導入することが通常必要であるが、PTSよりEPLの方が、現時点では必要な変異導入残基数が少ない。したがって、今度新規ターゲットを区分標識する場合は、今回の知見を参考にしながら、最適な方法を事前に検討し計画を立てることが極めて重要である。

区分標識法の適用をより容易にするためには、PTS法では、より少ない変異導入残基数でもライゲーションが進むようなインテインの開発が必要であり、EPL法では、C末端にチオエステル基を持つフラグメントを確実に調製できる方法の開発が必要である。

今後、マルチドメイン蛋白質をはじめとする、大きな分子量の蛋白質の複合体の解析が、システム全体としての構造と機能の相関を理解する上で必要になってくると思われ、それに伴い区分標識

法の重要性は更に増すと思われる。分子量の限界がない固体NMR法においても、シグナルの縮重、帰属が最大の難点であり、区分標識法を効果的に用いる手法は有用であると期待される。

しかしながら、汎用的に区分法を用いるためにはまだまだ改良の余地がたくさん残されており、今後の発展が望まれる。高度化する同位体標識法の長所を引き出すNMR技術、そしてより複雑なシステムにおけるNMR法の寄与に今後期待したい。

参考文献

- [1] Ohki S-Y, and Kainosho M. (2008) Stable isotope labeling methods for protein NMR spectroscopy. *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.* **53**, 208-226.
- [2] Muir, TW., Dolan, S., and Cole, PA., (1998) Expressed protein ligation: A general method for protein engineering, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 6705-6710.
- [3] Yamazaki, T., Otomo, T., Oda, N., Kyogoku, Y., Uegaki, K., Ito, N., Ishino, Y., Nakamura, H., (1998) Segmental Isotope Labeling for Protein NMR Using Peptide Splicing, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 5591-5592.
- [4] Kobashigawa, Y., Kumeta, H., Ogura, K., Inagaki, F., (2009) Attachment of an NMR-invisible solubility enhancement tag using a sortase-mediated protein ligation method, *J. Biomol. NMR* **43**, 145-150.
- [5] Anraku, Y., Satow, Y., (2009) Reflections on protein splicing: structures, functions and mechanisms, *Proc. Japan Acad. Ser B Phys. Biol. Sci.* **85**, 409-421.
- [6] David, R., Richter, M. P. O., Beck-Sickinger, A. G., (2004) Expressed protein ligation. Method and applications, *Eur. J. Biochem.* **271**, 663-677.
- [7] Muona, M., Aranko, A S., Raulinaitis, V., Iwai, H., (2010) Segmental isotopic labeling of multi-domain and fusion proteins by protein trans-splicing *in vivo* and *in vitro*, *Nature Protocols*, **5**, 574-587.
- [8] Volkmann, G., Iwai, H., (2010) Protein trans-splicing and its use in structural biology: opportunities and limitations, *Mol. Biosyst.* **6**, 2110-2121.
- [9] Züger S., and Iwai, H., (2005) Intein-based biosynthetic incorporation of unlabeled protein tags into isotopically labeled proteins for NMR studies, *Nature Biotech.* **23**, 736-740.
- [10] Minato, Y., Ueda, T., Machiyama, A., Shimada, I., Iwai, H., (2012) Segmental isotopic labeling of a 140 kDa dimeric multi-domain protein CheA from *Escherichia Coli* by Expressed Protein Ligation and Protein Trans-Splicing, *J. Biomol. NMR* **53**, 191-207.
- [11] Liu D, Xu R, Cowburn D (2009) Segmental isotopic labeling of proteins for nuclear magnetic resonance. *Methods Enzymol.* **462**, 151-175.
- [12] Hackeng, TM., Griffin, JH., Dawson PE., (1999) Protein synthesis by native chemical ligation:

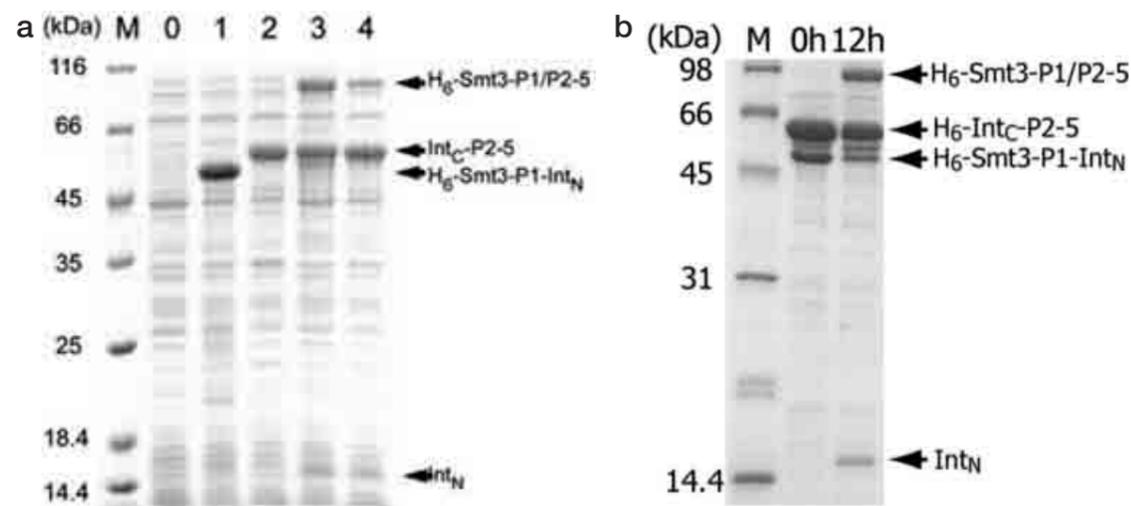


図7 PTS法によるライゲーション反応(論文[10]より抜粋)

(a) *in vivo* PTS反応。レーン0: 誘導前、1: IPTG誘導、2: アラビノース誘導、3, 4: 両方で誘導。3, 4では、ライゲーションされたP1/P2-5に由来する、高分子量のバンドが観測された。

(b) *in vitro* PTS反応。12時間の反応で、70%程度の効率でライゲーションが進行した。

Expanded scope by using straightforward methodology, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 10068-10073.

[13] Muona, M., Aranko, AS., Iwai, H., (2008) Segmental isotopic labelling of a multidomain protein by protein ligation by protein trans-splicing, *Chem Bio Chem* **9**, 2958-2961.

[14] Shimada, I., Ueda, T., Matsumoto, M., Sakakura, M., Osawa, M., Takeuchi, K., Nishida, N., Takahashi, H., (2009) Cross-saturation and transferred cross-saturation experiments, *Prog. Nuc. Magn. Reson. Spect.* **54**, 123-140.

解説

H⁺-ATP合成酵素サブユニットc (*E. coli*) の
固体NMRによる研究

大阪大学蛋白質研究所

阿久津 秀雄

1. はじめに

地球上のほとんどの生物は膜を挟んで形成されるプロトン濃度勾配をアデノシン三リン酸 (ATP) に変換したり、ATPを分解してプロトン濃度勾配を作り出したりするタンパク質複合体を持っている。前者は光や有機物からエネルギーを取り出すのに使われ、後者は例えば酸性の温泉等で生物が細胞質のpHを中性に保つのに使われている。ATPは生体内で最もよく使われているエネルギーキャリアーで、われわれの社会における電気のようなものである。生物によってはプロトンの代わりにナトリウムイオンを使う等、さまざまなものがあるが、本稿では最もよく研究されているF-typeのH⁺-ATP合成酵素を取り扱う。上記のタンパク質複合体は文字通り回転するモータータンパク質であり、回転がATPの合成・分解を触媒する巧妙なナノマシー

ンである。最も単純な組成を持つバクテリアのH⁺-ATP合成酵素では、**図1A**のように膜から水相に突き出したF₁と膜に埋まったF₀部分からなる^[1]。F₁はさらに5種類のサブユニットからα₃β₃γδεのように構成されており、F₀では3種類のサブユニットがab₂c_nを構成している。最初に回転が確認されたのはF₁中のγサブユニットで、この回転が反応触媒部位のあるβサブユニットの構造を変化させて反応を進める。一方、γの回転は膜中のサブユニットcリングとカップルしている。このリングを構成しているサブユニットcの数は生物によって異なり、8から15が知られている。本稿で取り上げる大腸菌、好熱菌PS3では10個である。

プロトン濃度勾配がcリングを回転させるメカニズムについては**図1B**のようなモデルが提案されている^[2,3]。cリングは膜を貫通しているが、膜の中ほど、即ち疎水性部分に酸性アミノ酸残基がある。この側鎖のカルボン酸が必須で、プロトンの輸送を担っている。このカルボン酸にプロトンを受け取るプロトンチャネルとプロトンを受け取るプロトンチャネルがあると考えられている。これらのチャネルはいずれも膜を貫通していない。どこにあるかも明確ではない。したがって、cリングの活性部位でのプロトンのやり取りのメカニズムも明らかでない。まずはタービンとなるcリングの膜中における構造を知ることから始めねばならない。膜に埋まっているF₀では固体NMRが有力な手法となる。勿論、界面活性剤を用いたX線結晶解析は優れた手法の一つであり、近年サブユニットcの構造が次々と報告されている^[4,他]。しかし、膜中での解析には困難がある。電子顕微鏡を用いた方法も高分解能な解析は行っていない。

2. サブユニットcの溶液構造とcリング構造

1999年にGirvinらは大腸菌サブユニットc (EF₀c)の有機溶媒中の構造がpH依存性を示すことを基

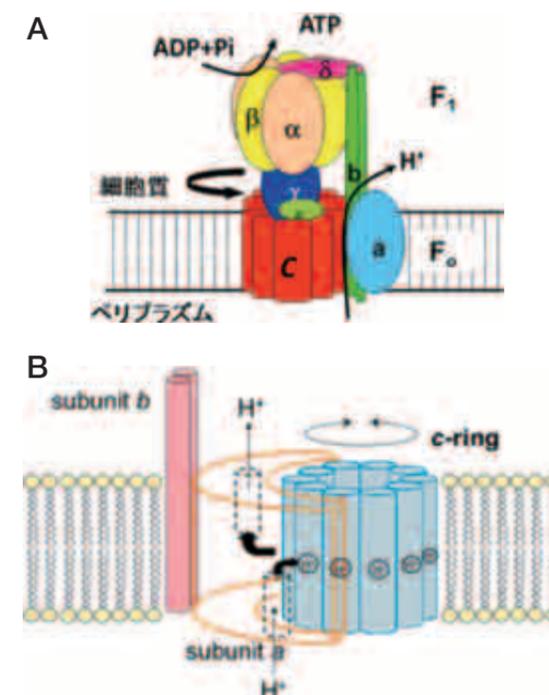


図1 F₀F₁-ATP合成酵素 (A) とF₀におけるプロトン移動モデル (B)

受領日: 2012年9月9日 受理日: 2012年9月21日 松森信明



岩井 秀夫 (いわい・ひでお)

ヘルシンキ大学バイオテクノロジー研究所・グループリーダー

1992年東京大学薬学部薬学科卒業。1994年東京大学大学院薬学系研究科修士課程卒業。1998年スイス連邦工科大学チューリッヒ校にて博士号取得。同大学博士研究員、チューリッヒ大学博士研究員、理化学研究所博士研究員を経て、2003年サスカチュワン大学助教授。2005年現職に就任。

[専門] 蛋白質工学、核磁気共鳴分光法

に、プロトン移動機構におけるサブユニットcリングの構造と役割を提案した^[5]。われわれは好熱菌PS3のサブユニットc (TF₀c) をクロロフォルムメタノール法で抽出してその有機溶媒中での構造決定を行った^[6]。図2左にその酸性状態での構造を示す。2本の α -ヘリックスを持つヘアピンである点ではEF₀cと基本的に同じ構造である。しかし、長距離NOEのpH変化の結果は酸性と中性で大きな構造変化はないことを示している(図2右)。われわれは溶液中での単量体構造は基本的なフォールドについてはリング中のものを反映している可能性は高いが、ヘリックス間、およびサブユニット間の構造についてはリング中の構造を反映しているとは限らないとの結論に達した。やはり膜中のリング構造を直接研究する必要がある。このような系に溶液NMRを用いることは難しいので、固体

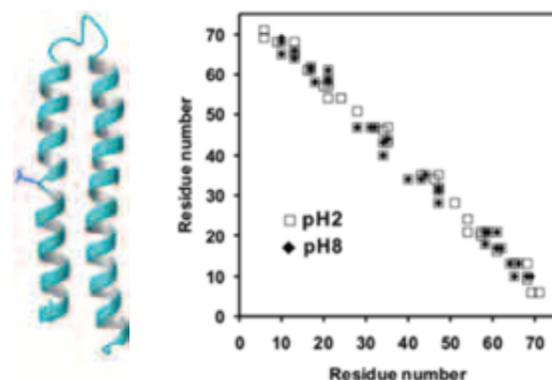


図2 好熱菌F.サブユニットcの溶液構造(左)および酸性と中性での長距離NOE(右)。必須酸性アミノ酸の側鎖が示されている。Ref. 6より。

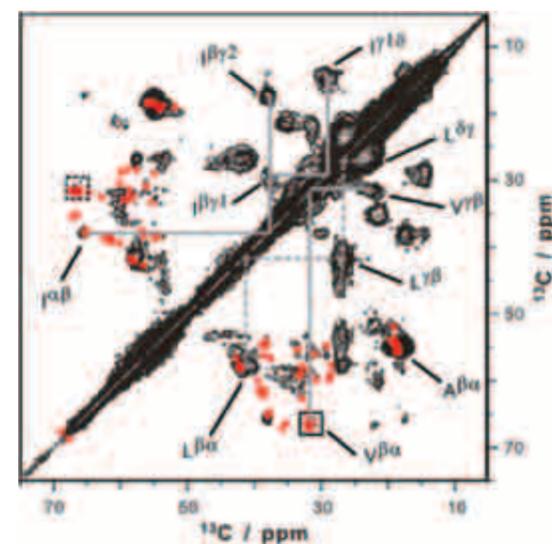


図3 膜再構成大腸菌F.サブユニットcリングの固体NMR DARRスペクトル。混合時間15ms、-40°C。赤は溶液構造の化学シフト。Ref. 7より

NMRを用いて研究することにした。

3. 大腸菌サブユニットcリングの構造解析

3.1. 大腸菌サブユニットcの抽出・精製と膜へのcリング再構成

上述のようにEF₀cのリング構造とプロトン移動機構モデルが提案されていたので、EF₀cリングオリゴマーを作製し、その構造を調べた^[7]。サブユニットcとcリングの膜への再構成にはいくつかの方法が提案されている。EF₀cリング構造の提案がFillingameの共同研究者から出されていたのでわれわれは彼らの方法に従った^[8]。クロレラ抽出液(CHL)培地を用いて¹³C, ¹⁵N標識したサブユニットcを大腸菌で大量発現させ、これをクロロフォルム/メタノール(1/1)で抽出し、ジエチルエーテルで沈殿させて、カルボキシメチルセルロースカラムで精製した^[9]。リングの形成と脂質二重膜への再構成は界面活性剤オクテル- β -D-グルコシド(OG)を用いて行った^[10]。OGに可溶化されたEF₀cは超遠心分析で均一なオリゴマーであることを確認した。また、Fillingameらはこのオリゴマーを脂質小胞(リボソーム)に再構成するとATP分解に伴うH⁺移動活性を持つと報告している^[11]。われわれはこれを透析法により重水素化脂質(DMPC-d₅₄, 1,2-perdeuterateriomyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)に再構成して、固体NMRの測定に用いた。EF₀c再構成脂質膜が均一であることはショ糖密度勾配遠心により確認した。

3.2. シグナルの帰属と2次構造

EF₀cのアミノ酸配列は1文字表記で次のようなものである。

MENLN MDLLY¹⁰ MAAAV MMGLA²⁰
AIGAA IGIGI³⁰ LGGKF LEGAA⁴⁰
RQPDL IPLLR⁵⁰ TQFFI VMGLV⁶⁰
DAIPM IAVGL⁷⁰ GLYVM FAVA⁷⁹

まずは¹³C, ¹⁵N-均一標識の膜再構成EF₀cリングのシグナルの帰属を行った。これは既に報告したEF₀c固体のシグナル帰属^[9]を基礎とした。図3にマジック角試料回転(MAS)下で測定した膜再構成均一標識EF₀cの¹³C相関DARR(Dipole-assisted rotational resonance)^[12]スペクトルを示す。ここに見るように、MAS下では溶液NMRに近い分解能(とは言っても溶液に比べて線幅はかなり広い)の

スペクトルを得ることができる。アミノ酸ベースの帰属の一部も示してある。このスペクトルは溶液NMRのNOESYにあたるが、混合時間が15msと短いためほとんどのクロスピークは直接結合の炭素間に由来する。サブユニットc固体の同種スペクトル^[11]と比較するとはるかに良い分解能のスペクトルで、EF₀cが膜内で均一構造をとっていることを示す。赤いクロスピークは溶液構造から計算した化学シフトで一部を除いては両者の化学シフトが似ていることが分かる。

次に配列帰属を行うためにやはりMAS下でCa(i)-Ca(i+1)相関スペクトル^[13]の測定を行った。それを図4に示す。図から分かるように中央部分のクロスピークはほとんど分離して観測されないが、グリシン(Gly)、バリン(Val)、イソロイシン(Ile)を含むものは分離して観測される。したがって、この方法は上記のアミノ酸が多い膜貫通部分の解析に向いている。実線で示されているように、クロスピークをたどることによりかなりのCaシグナルを帰属することができる。このスペクトルはカルボニルの帰属にも使える。さらに¹³C, ¹⁵N二次元相関での特異なクロスピークは配列帰属ができる。これらの帰属に基づいた主鎖二面角予測から、その二次構造は溶液構造の場合と同じく2本のヘリックスが中央のループで結ばれていることが示された。脂質膜に再構成されるとプロトン移動活性を持つと報告されており^[11]、このペプチドは厚さ約40Åの膜に収まっている必要がある。したがって、EF₀cは全体としてヘアピン型フォールドを持つと結論できる。

3.3. タンパク質から見た脂質との相互作用

次に、このヘアピンがリングの中でどのような構造をとっているかを脂質との相互作用をとおして調べた。ここで使われている試料では膜脂質の脂肪酸鎖は重水素化されており、サブユニットcは重水素化されていない。そこで、MAS下でEF₀cのプロトンから脂質の重水素への磁化移動を観測するパルス系列(¹³C-NMR observation of ²H-selective ¹H-depolarization, CODSHD)^[14]を用いることにより脂質に面しているアミノ酸を調べた。そのスペクトルを図5に示す。この一番上は通常の一次元スペクトルであるが、下の3つは磁化移動を起こしたものと起こさないものとの差スペクトルで、観測されるシグナルは脂質と近いアミノ酸由来のものである。脂質はリングの中にある

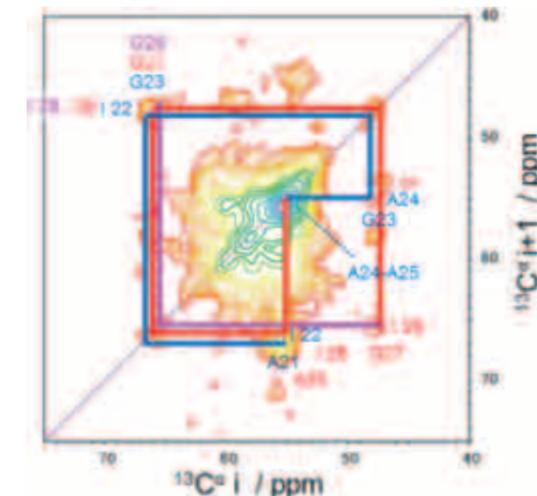


図4 膜再構成大腸菌F.サブユニットcリングの固体NMR Cai-Ca(i+1)相関スペクトル。実線は配列帰属を示す。-40°C。Ref. 7より。

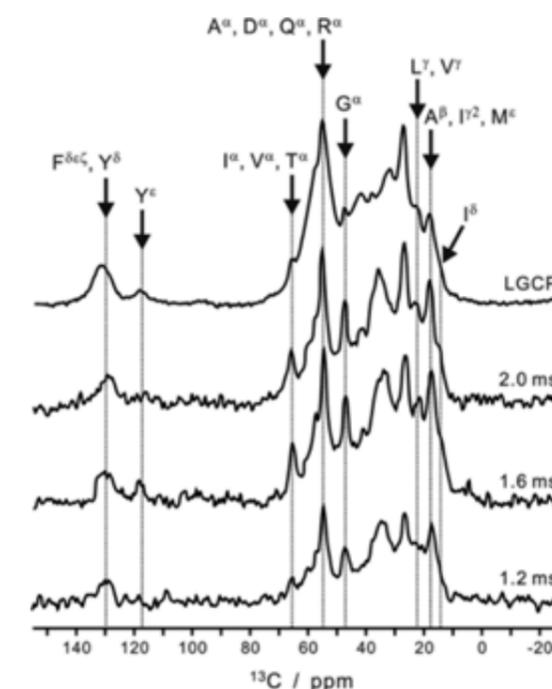


図5 膜再構成大腸菌F.サブユニットcリングの固体NMR CODSHDスペクトル。一番上は通常の¹Hデカップルスペクトル。下の三つは磁化移動差スペクトル。数字はCPのcontact time。帰属はアミノ酸の1文字表記で示してある。-50°C。Ref. 7より。

ことも考えられるが、量的に見てリングの外側の影響が圧倒的である。主なシグナルについてそこに現れる可能性のあるアミノ酸残基を1文字表記で示してある。複数が重なったものでは明確な帰属はできないが、重なりのないものについては帰属ができる。それは14.2ppmのI^β、47.5ppmのG^α、65.8ppmのF^δである。

N末端側ヘリックスを考えるとフェニルアラニン

は35番目にしかなく、この前後に親水性アミノ酸が並んでおり、二重膜の極性領域に存在していると考えられる。これらは疎水性の脂肪酸に近いとは考えにくい。したがって、脂肪酸に面しているのはC末端ヘリックスであると結論できる。これは今までのFillingameらの生化学的結果^[15]や、他の生物種のcリングの結晶構造^[4, 16]と一致する。C末端側ペプチドを典型的なヘリックス構造と仮定し、ヘリックス軸から見て±30°の面に上下に並ぶアミノ酸のラインアップを考えると7種類考えられる。そのうち、イソロイシン、グリシン、フェニルアラニンが含まれているのは次の3種類である。

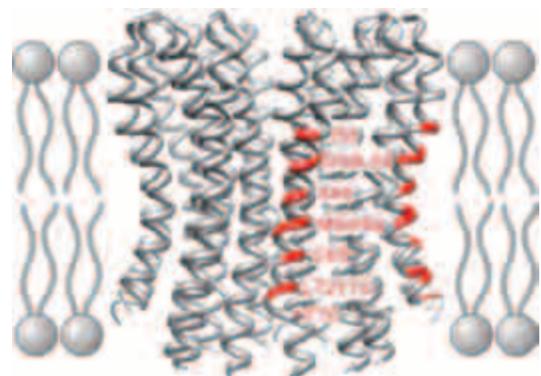


図6 膜再構成大腸菌F。サブユニットcリングのモデル構造。赤は脂質脂肪酸との磁化移動が観測されたアミノ酸残基。Ref. 7より。

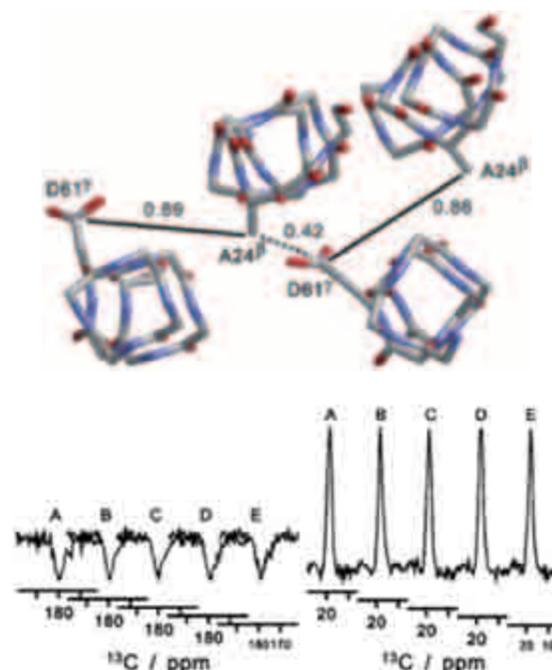


図7 化学合成EF_cサブユニットcリングを用いた回転共鳴測定。A, 提案モデル構造の活性部位。B, A24^βとD61^γ間の回転共鳴スペクトル。mixing timeは右から左へ、0.01, 5, 10, 15, 20 ms。-80°C。Ref. 7より。

1) (F54I55), G58, (D61A62), M65, (V68G69), L72, 2) F53, (V56M57), V60, (I63P64), A67, (L70G71), V74, 3) I55, (G58L59), A62, (M65I66), G69, (L72Y73), F76。 ()は二つのアミノ酸の間がラインに乗ることを示す。スペクトルを見ると弱いながらもY^εが観測されているので、3)の並びが脂質に面していると結論した。サブユニットc11個からなる*I. tartaricus*リングの結晶構造^[16]を参考にし、実測に合うように求めたEF_c10個のリング構造モデルを図6に示す。上記の3)のアミノ酸残基をヘリックス上の赤で示してある。

Fillingameらはインタクトな状態におけるクロスリンクで、サブユニットaに面している(即ち、外に面している)アミノ酸残基を徹底的に調べている^[15]。それによるとF54, I55, A62, M65, G69, L72, Y73がサブユニットaと相互作用する。F76は調べられていない。この結果はわれわれの結果と非常に良い一致をしており、われわれがin vitroで再構成したオリゴマーはインタクトなリングと同様な構造をとっていることを示している。さらに、彼らの変異実験に依れば、I55Cは完全に生育を抑え、G69CとY73Cは生育を著しく遅くする。これらの残基はプロトン移動を円滑に進める上で重要な役割を果たしていると考えられる。

3. 4. 化学合成試料を用いた活性部位構造の検討

では活性部位の構造はどうなっているのか。提案されていたモデル構造は溶液構造を基にしていたので、脂質中のリング構造で活性部位の提案構造が実現しているかどうかを選択的に標識した試料を用いて調べた^[7]。このような試料ではアミノ酸選択的ではなく配列選択的に安定同位体標識を行う必要がある。したがって、この場合、大腸菌発現系を用いることはできない。そこで、大阪大学蛋白質研究所の相本三郎教授にお願いして、特定部位のみを選択標識したEF_cを化学合成していただいた。固体NMRではプロトン間の距離を測定するのは難しいので炭素と窒素を使う。注目したのは提案モデル構造で一番近い距離の一つであるA24C^βとD61C^γの距離である。後者は活性に必須の酸性アミノ酸のカルボキシル基である。図7Aに示すようにその距離は4.2Åである。さらにこの二つの残基は遺伝子工学的に入れ替えても活性を維持するといういわくつきのものである。合成していただいたEF_c([3-¹³C]Ala24, [4-¹³C]Asp61)を他の試料と同様な方法で膜に再構成して、MAS下で

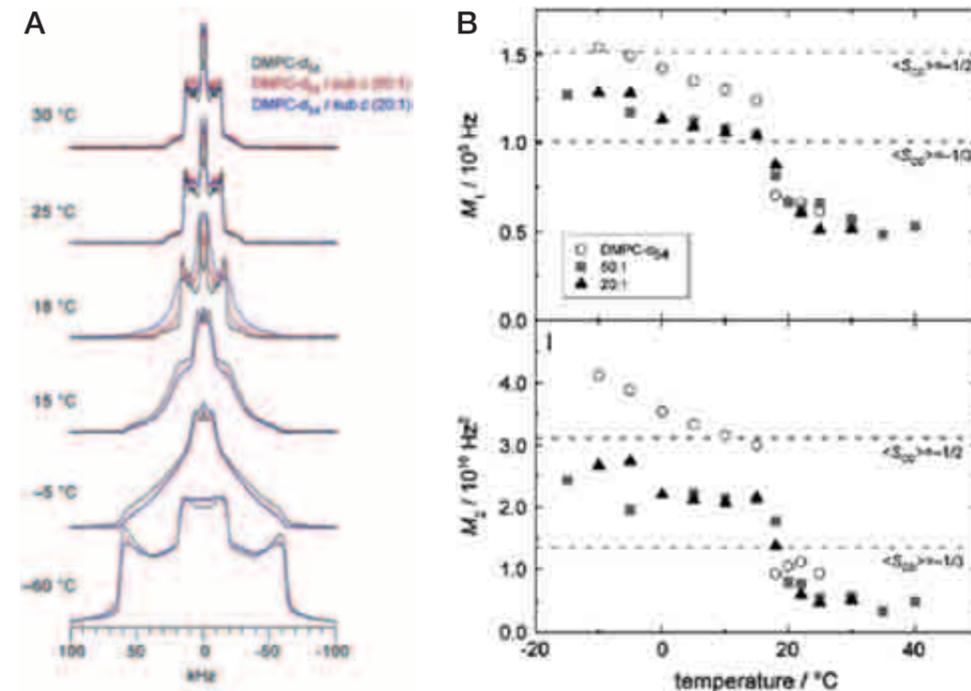


図8 EF_cリング再構成膜脂質の固体重水素NMRスペクトル(A)とスペクトルモーメントの温度変化(B)。秩序パラメータとの対応を点線で示した。Ref. 10より。

constant-time回転共鳴法^[17]により標識炭素間の磁化移動を観測した。その結果を図7Bに示す。残念ながら両炭素の間では磁化移動は観測されず、その距離は6Å以上との結論になった。したがって、活性部位の構造は溶液構造から組み立てられたものとは異なっている可能性が示唆された。図7で示したモデル構造ではA24C^βとD61C^γの距離は6.5Åであり、この結果と矛盾しない。

4. 脂質から見た大腸菌サブユニットcリングと膜脂質との相互作用

EF_cリングは膜中で脂質とどのような相互作用をしているのだろうか。図1に見るようにcリングの大半はF₀F₁複合体の中でも脂質と接しているのでこれは活性を理解する上で重要な因子である。前項でタンパク質の方からこの相互作用を見たが、今度は脂質の方から見てみたい。幸い、前項で使った試料の膜脂質脂肪酸が完全重水素化されているので、重水素固体NMRを使うことによりこれに関する情報を得るための実験を行った^[10]。脂質とタンパク質の相互作用を解析する場合、脂質二重膜部分が液晶状態を取っているか、ゲル状態をとっているかで大きく変わる。液晶状態では脂質分子は膜内を自由に併進拡散することができ、脂質二重膜は膜タンパク質に対して二次元溶媒として振る舞う。一方、ゲル状態では脂質分子の運動

は制限され、タンパク質と脂質の相互作用はかなり静的なものに近づく。この両者の間の転移を相転移という。いろいろな要因がこの転移を引き起こすが、熱による場合、転移を起こす温度を相転移温度と呼ぶ。われわれが使っているDMPC-d₅₄二重膜の場合、脂肪酸が重水素化されているため液晶状態とゲル状態の相転移温度は約18°Cである(非重水素化DMPCでは約23°C)。

重水素のスピ量子数は1であるため、四重極を持ち、エネルギーレベルは3つある。四重極相互作用の影響で二つの隣り合うレベルの差は異なっており、固体では2本の共鳴線が観測される。この2本の共鳴線の周波数差を四重極分裂と呼ぶ。本稿の解析では四重極相互作用に注目するので、これをMASで消すわけにはいかない。われわれは配向試料を使っていないので、膜面はさまざまな方向を向いている。この場合、さまざまな方向での共鳴線の重なりとなり、粉末パターンスペクトルを与える。図8Aにさまざまな温度でのわれわれの試料と純粋なDMPC-d₅₄二重膜の²H-NMRスペクトルを示す。2本の共鳴線がベースになっているためにスペクトルは左右対称である。ここには54個の重水素のスペクトルが重なっているため複雑なように見えるが、液晶状態ではメチレン、メチルでは等価になるため意外と分解能が良い。対称な2本のピークの間隔が四重極分裂を与える。これら

がどのメチレンに由来するかという帰属も既になされている。中央の鋭いピークはメチル由来である。しかし、18°C以下のゲル状態になると運動が抑えられるため、線幅は著しく広くなり、帰属は不可能になる。そこで、一次および二次のモーメントを求めて温度に対してプロットしたのが図8Bである。ただし、左右対称な粉末パターンスペクトルの半分の領域のk次のモーメント M_k は以下の式で与えられる。

$$M_k = \int_0^\infty \omega^k f(\omega) d\omega / \int_0^\infty f(\omega) d\omega$$

図8Bから分かるように、これらのモーメントは予想通り18°C付近で大きく変化している。即ち、ここで相転移が起こっている。 M_k は脂肪酸各位置の秩序パラメータ(S_{CD}^i)のk乗の和と関係するので^[10]、ゲル状態におけるモーメントの増加は運動が抑制されて秩序が上がったことを示す。これは相転移の当然の結果である。注目すべき膜タンパク質EF₀cリングの影響である。ゲル状態ではその影響がはっきり出ている。cリングの存在により脂質膜の秩序が下がっている。タンパク質の割合を上げて大きくは変わらないので、これはタンパク質と直接接触しているものの性質というよりは脂質二重膜部分の性質を反映しているものと考えられる。ところが、液晶状態ではcリングの影響がほとんど見られない。まず考えられるのはEF₀cリングが脂質膜に入らずに凝集していることであるが、ゲル状態でのモーメントや、試料のショ糖密度勾配遠心で脂質のみのバンドより重いところに1本のバンドが観測されたことと矛盾する。あるいは、ゲル状態では均一に分布し、液晶状態では同じ膜

上でタンパク質と脂質部分に相分離しているとも考えられる。しかし、この実験は温度を下げながら観測しているので、液晶状態で相分離していれば流動性の落ちるゲル層で均一分布に変化することは考えられない。したがって、液晶状態ではEF₀cリングの存在によって膜スペクトルのモーメント、即ち、脂肪酸鎖C²Hの秩序パラメータ(S_{CD}^i)は顕著には変化しないと結論できる。液晶状態ではスペクトルの分解能が良いので各炭素位置iでの四重極分裂から直接 S_{CD}^i を決定できる。その結果、 S_{CD}^i はEF₀cリングの影響をほとんど受けないことが確認された。 S_{CD}^i は膜厚をも決定するので、膜厚も影響を受けないことを意味する。これはEF₀cリングの疎水性部分とDMPC膜の疎水性部分の厚さが相互に適合しており、いわゆるhydrophobic matchingが良いことを示す。一方、ゲル状態では膜厚が広がるためミスマッチが起こり、cリングの影響が顕著に出たものと考えられる。

脂質の動的な性質を調べるために脂肪酸各部位の重水素の縦緩和時間の測定を行った。それにもcリングの影響は顕著には現れなかった。脂質重水素の縦緩和機構にはトランス、ゴーシュ構造の変換のような局所的な運動から二重膜脂質分子の集団の運動のような広域のものまでが含まれる。特に、縦緩和速度と秩序パラメータ $|S_{CD}^i|^2$ との関係からは後者由来である膜の粘弾性的な情報が得られることが報告されている^[18]。そこで液晶状態におけるこれらの関係をプロットしたのが図9である。この傾きが粘弾性に関係しており、急なほど柔らかい。柔らかい例として非イオン性界面活性剤(C₁₂E₈)を加えたもの、硬い例としてコレステロールを加えたものを図中に示した。ここでもリングの

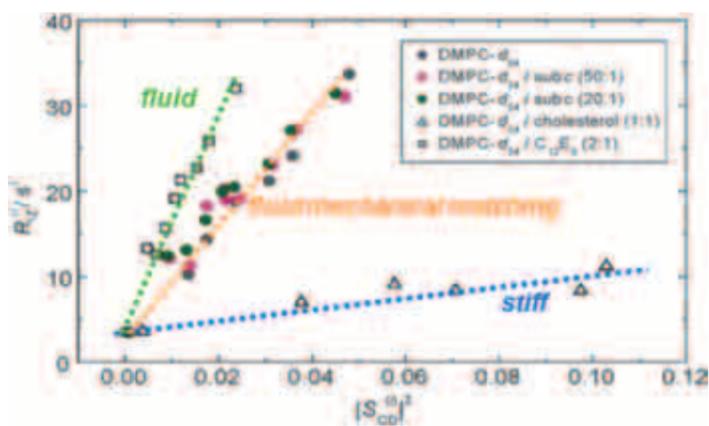


図9 EF₀cリング再構成膜脂質の固体重水素NMRから見た流体力学的性質。脂肪酸各位置の重水素の緩和速度と秩序パラメータの関係を示す。30°C。Ref. 10より。

存在はあまり影響を与えていない。膜タンパク質の存在が脂質膜の粘弾性に影響を与えないということはタンパク質表面と脂質との相互作用が脂質分子間の相互作用に近いことを示しており、生理的条件に近い液晶状態ではEF₀cリング表面と脂質の間が滑らかであり、新たな粘性抵抗は生まれていないことを示す。即ち、これは流体力学的な適合性(fluid mechanical matching)が良いことを意味する。タンパク質・脂質間のこのような相互作用はプロトン濃度勾配にしたがってリングが回転するとき、脂質の粘性抵抗によるエネルギー散逸を少なくすることを保証するものであり、生理的条件下での効率的なエネルギー変換を支える重要な因子であると考えられる。

5. まとめ

以上、われわれは大腸菌の再構成F₀サブユニットcリングについて固体NMRを用いてリング構造の検討、活性部位構造の検討、リングと脂質の相互作用の検討を行った。しかし、本格的構造解析には可能な限りインタクトな試料と多様な標識法の開発が必要である。そこでわれわれは好熱菌のF₀サブユニットcリングをインタクトな状態で分離、精製する方法を確立した^[19]。現在、これを用いて本格的なcリングの構造解析に取り組んでいる。

謝辞

ここに解説した研究は引用文献に記載された多くの方々との共同研究である。特に、東京工業大学の吉田賢右先生(現、京都産業大)、大阪大学蛋白質研究所の藤原敏道先生、相本三郎先生、池上貴久先生、およびアリゾナ大学のMichael Brown先生には大変お世話になった。ここに全共同研究者に感謝する。

参考文献

- [1] Yoshida, M., Muneyuki, E., and Hisabori, T. (2001) ATP synthase - a marvelous rotary engine of the cell. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**, 669-677.
- [2] Dong, H., and Fillingame, R. H. (2011) Chemical reactivities of cysteine substitutions in subunit a of ATP synthase define residues gating H⁺ transport from each side of the membrane. *J. Biol. Chem.* **285**, 39811-39818.
- [3] Dimroth, P. von Ballmoos, C., Meier, and T., Kaim, G. (2003) Electrical power fuels rotary ATP synthase. *Structure*, **11**, 1469-1473.

- [4] Pogoryelov, D., Yildiz, Ö., Faraldo-Gómez, J.D., and Meier, T. (2009) High-resolution structure of the rotor ring of a proton-dependent ATP synthase. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **16**, 1068-1074.
- [5] Rastogi, V. K., and Girvin, M. E. (1999) Structural changes linked to proton translocation by subunit c of the ATP synthase. *Nature* **402**, 263-268.
- [6] Nakano, T., Ikegami, T., Suzuki, T., Yoshida, M., Akutsu, H. (2006) A new solution structure of ATP synthase subunit c from thermophilic *Bacillus* PS3, suggesting a local conformational change for H⁺-translocation. *J. Mol. Biol.* **358**, 132-144.
- [7] Todokoro, Y., Kobayashi, M., Sato, T., Kawakami, T., Yumen, I., Aimoto, S., Fujiwara, T., and Akutsu, H. (2010) Structure analysis of membrane-reconstituted subunit c-ring of *E. coli* H⁺-ATP synthase by solid-state NMR. *J. Biol. NMR*, **48**, 1-11
- [8] Girvin, M. E., and Fillingame, R. H. (1993) Helical structure and folding of subunit c of F₁F₀ ATP synthase: ¹H NMR resonance assignments and NOE analysis. *Biochemistry*. **32**, 12167-12177.
- [9] Kobayashi, M., Matsuki, Y., Yumen, I., Fujiwara, T., and Akutsu, H. (2006) Signal assignment and secondary structure analysis of a uniformly [¹³C, ¹⁵N]-labeled membrane protein, H⁺-ATP synthase subunit c, by magic-angle spinning solid-state NMR. *J. Biomol. NMR*. **36**, 279-293.
- [10] Kobayashi, M., Struts, A. V., Fujiwara, T., Brown, M. F., and Akutsu, H. (2008) Fluid mechanical matching of H⁺-ATP synthase subunit c ring with lipid membranes revealed by ²H solid-state NMR. *Biophys. J.*, **94**, 4339-4347.
- [11] Dmitriev, O.Y., Altendorf, K., and Fillingame, R.H. (1995) Reconstitution of the F₀ complex of *Escherichia coli* ATP synthase from isolated subunits. *Eur. J. Biochem.* **233**, 478-483.
- [12] Takegoshi, K., Nakamura, S., and Terao, T. (2001) ¹³C-¹H dipolar-assisted rotational resonance in magic-angle spinning NMR. *Chem. Phys. Lett.* **344**, 631-637.
- [13] Fujiwara, T., Todokoro, Y., Yanagishita, H., Tawarayama, M., Kohno, T., Wakamatsu, K., and Akutsu, H. (2004) Signal assignments and chemical-shift structural analysis of uniformly ¹³C, ¹⁵N-labeled peptide, mastoparan-X, by multidimensional solid-state NMR under magic-angle spinning. *J. Biomol. NMR*. **28**, 311-325.
- [14] Harada, E., Todokoro, Y., Akutsu, H., and Fujiwara, T. (2006) Detection of peptide-phospholipid interaction sites in bilayer membranes by ¹³C NMR spectroscopy: Observation of ²H,³¹P-selective ¹H-depolarization under magic-angle spinning. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 10654-10655.
- [15] Moore, K., and Fillingame, R.H., (2008) Structure interactions between transmembrane helices 4 and

5 subunit *a* and the subunit *c* ring of *Escherichia coli* ATP synthase. *J. Biol. Chem.* **283**, 31726-31735.; Jiang, W., Fillingame, R.H. (1998) Interacting helical faces of subunits *a* and *c* in the F_1F_0 ATP synthase of *Escherichia coli* defined by disulfide cross-linking. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 6607-6612.

[16] Meier, T., Polzer, P., Diederichs, K., Welte, W., and Dimroth, P. (2005) Structure of the rotor ring of F-type Na^+ -ATPase from *Ilyobacter tartaricus*. *Science* **308**, 659-662.

[17] Balazs, Y.S., Thompson, L.K. (1999) Practical methods for solid-state NMR distance measurements on

large biomolecules. *J. Magn. Reson.* **139**, 371-376.

[18] Brown, M.F., Thurmond, R.L., Dodd, S.W., Otten, D., and Beyer, K. (2002) Elastic deformation of membrane bilayers probed by deuterium NMR relaxation. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 8471-8484.

[19] Yumen, I., Iwasaki, I., Suzuki, T., Todokoro, Y., Tanaka, K., Okada, O., Fujiwara, T., Yoshida, M., and Akutsu, H. (2012) Purification, characterization and reconstitution into membranes of the oligomeric *c*-subunit ring of thermophilic F_0F_1 -ATP synthase expressed in *E. coli*. *Protein Expr. Purif.*, **82**, 396-401.

解 説

NMRスペクトルの多変量解析による
合成高分子の一次構造解析

¹ 三菱レイヨン (株) 中央技術研究所

² 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部

百瀬 陽¹、平野 朋広²、右手 浩一²

1. はじめに

核磁気共鳴分光 (NMR) 法は、高分子の一次構造を解析する最も有力な手段の1つである。高分子へのNMR法の適用は、1957年にGutowskyらによって初めてなされた^[1]。1960年には、Nishiokaら^[2]、Boveyら^[3]、Johnsenら^[4]がそれぞれ独立に、ポリメタクリル酸メチルの¹H NMRスペクトルが3連子立体規則性 (イソタクチック *mm*、ヘテロタクチック *mr* およびシンジオタクチック *rr*) (図1) によって分裂することを見出した。その後、モノマー連鎖^[5~7]、末端基^[8~10]、分岐構造^[11~14]など、NMR法による一次構造解析が進められてきたが、これらの多くは、モノマーを1つだけ用いた単独重合体や、モノマー構造が単純な共重合体を対象としたものである。

実用的な高分子材料の多くは2種類以上のモノマーを用いた多成分共重合体であり、その一次構造は高分子材料の性能に影響を与える主要因となることが多い。実際、立体規則性とガラス転移温度の関係^[15]や、モノマー連鎖と相溶性の関係^[16]にはじまり、半導体の微細加工用レジストに用いられる共重合体の末端基構造とレジスト感度^[17]の関係など、一次構造と材料物性との関係に関する研究は、枚挙に暇がない。高分子の一次構造を精密に制御することが材料性能の向上や新しい機能の発現に直結するため、材料性能の鍵となる一次構造だけに着目した解析が近年ますます求められている。

図2は、メタクリル酸メチル (M) とメタクリル

酸 *n*-ブチル (B) の二元共重合体のカルボニル炭素の¹³C NMRスペクトルである^[18]。わずか2種類のモノマー単位で構成された共重合体であっても、そのNMRスペクトルはブロードで複雑な形状になる。これは、種々存在するモノマー連鎖 (MMM、MMBなど) と立体規則性 (*rrrr*, *rmmr*など) が複雑に組み合わせられた結果を反映している。そのため、特殊なモデルポリマーを合成したり、二次元NMRを駆使したり、より高分解能なNMR装置を用いたとしても、個々の信号の帰属と定量には多大な時間と労力を要する。さらに3種類以上のモノマーを用いた共重合体の場合、一次構造の定量的な情報を取得することは非常に難しい。このような場合に、スペクトルの多変量解析^[19~20]が有用である。

NMRスペクトルの多変量解析の有用性がよく知られているのは、いわゆるメタボロミクスと呼ばれる生物代謝産物の網羅解析^[21]である。例えば、種々の毒物を投与されたラット^[22]や糖尿病ラット^[23]の尿と健康なラットの尿の¹H NMRスペクトルを多変量解析することで、病態別の分類が可能であることが報告されている。また、日本茶^[24]や薬用植物^[25]の抽出物のNMRスペクトルを多変量解析し、それらの品質管理へ適用する試みも興味深い。

一方、合成高分子の構造解析に多変量解析を適用した例として、近赤外^[26]およびラマン分光法^[27]との組み合わせによるエチレン-酢酸ビニル共重合体の組成決定、示差走査熱量測定 (DSC) との組み合わせによるポリエチレンの密度・分岐度の

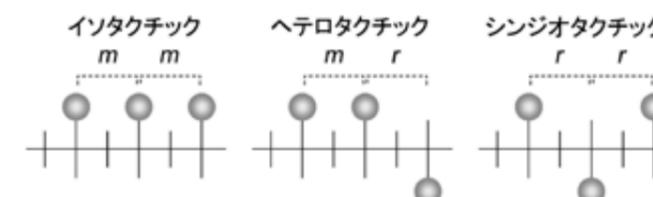


図1 立体規則性の表し方



阿久津 秀雄 (あくつ・ひでお)

1967年 東京大学理学部卒業
1972年 東大理学系研究科単位修得退学
1972年 大阪大学蛋白質研究所助手
1978~1980年 スイスパーゼル大学留学
1985年 横浜国立大学工学部助教授
1991年 横浜国立大学工学部教授
2000年 大阪大学蛋白質研究所教授
2002年 日本核磁気共鳴学会会員
2007年 大阪大学名誉教授・客員教授
2009年 韓国ソウル大学WCU教授 (併任)
現在に至る

決定^[28]、固体NMR法との組み合わせによる架橋高分子のモルフォロジー・ダイナミクス解析^[29,30]などが知られている。

最近、著者らは、多変量解析の標準的な方法である主成分分析 (PCA) と部分最小二乗回帰 (PLSR) を合成高分子の¹³C NMRスペクトルへ応用することで、複雑な信号の帰属を行うことなく、共重合体の組成、モノマー連鎖、立体規則性および分岐度に関する定量的な情報の取得に成功した。本稿では、実用的な高分子材料のモデルとして、メタクリル酸メチル (MMA)、メタクリル酸 t -ブチル (TBMA)、およびメタクリル酸2-ヒドロキシエチル (HEMA) の二元および三元共重合体、ならびに2つのビニル基を持つジメタクリル酸エチレングリコール (EGDMA) とTBMAからなる高分岐共重合体を取り上げ、これらの¹³C NMRスペクトルへ多変量解析を適用した事例についてまとめた。また、これらの検討を進める中で、多変量解析がNMRシグナルの帰属を行う手段としても有用であることを見出した。その例として、感熱応答性高分子の代表であるポリ N -イソプロピルアクリアミド (PNIPAAm) の¹Hおよび¹³C NMRスペクトル

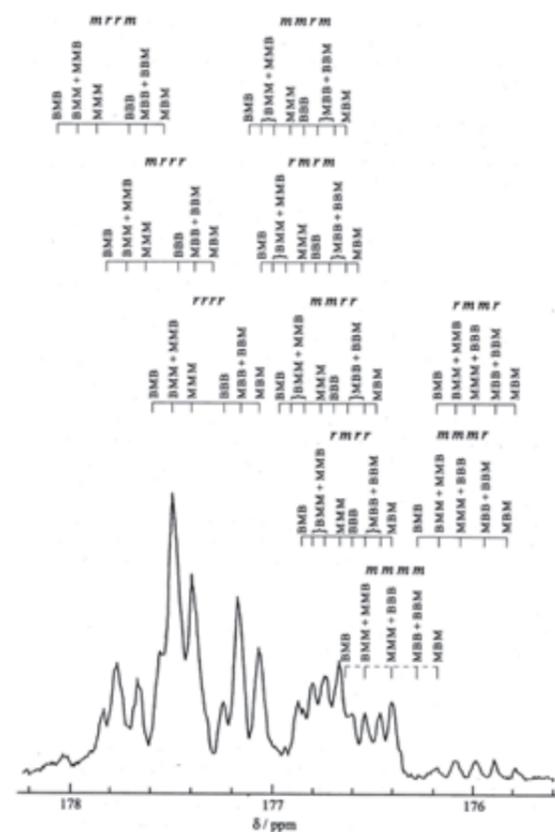


図2 メタクリル酸メチル-メタクリル酸 n -ブチル共重合体のカルボニル炭素の¹³C NMRスペクトル (CDCl₃中55°C、125 MHz)^[18]

の多変量解析についても紹介する。

2. MMA-TBMA 二元共重合体の共重合組成、モノマー連鎖および立体規則性

まず、MMAとTBMAの2種類のモノマー単位からなる共重合体の¹³C NMRスペクトルの多変量解析から検討を始めた^[31,32]。

乳酸エチルのモノマー混合物20wt%溶液中、温度80°Cでのフリーラジカル重合で合成したMMAとTBMAの各単独重合体 (PMMA、PTBMA)、組成が異なるPMMAとPTBMAの混合物9種、組成や収率が異なるMMA-TBMA共重合体16種の合計27種の試料を準備した。共重合体には、重合率を10%未満に抑えた初期共重合体9種と、重合率の高い共重合体7種の2グループを準備した。

これら27種の試料について、試料濃度、測定温度、積算回数などの条件を同一にして、¹³C NMRスペクトルを得た (図3)。このスペクトルの中で、2つのモノマー単位の共通骨格であるカルボニル炭素 (175.0 ~ 179.0 ppm)、主鎖4級炭素 (44.1 ~ 48.1 ppm) および α -メチル炭素 (15.1 ~ 23.1 ppm) の各共鳴領域を0.25 ppmの等間隔で機械的に積分を行い (これを「バケット積分」と言う)、データの中心化と規格化処理を行った後、PCAを行った。PCAを行うと、2つの情報が得られる。1つはローディングであり、それぞれの主成分が持つ純スペクトルと考えてよい。そのため、ローディングの中身が解析できれば、各主成分がどんな情報に基づいているかがわかる。もう1つはスコアであり、それぞれの主成分で表されるローディング (純スペクトル) の濃度に対応する値である。

まず、ローディングについて考える。単独重合体 (PMMA、PTBMA) およびTBMA組成53.4 mol%の共重合体のカルボニル、主鎖4級および α -メチル炭素領域の¹³C NMRスペクトルと、それらに対応するPCAローディングを図4に示す。第1主成分 (PC1) ローディングは、PMMAのシグナルが観測されるところに正として、PTBMAのシグナルが観測されるところに負として、それぞれ現れた。また、第2主成分 (PC2) ローディングは、PMMAとPTBMAのシグナルが観測されるところに正、共重合体に特有なシグナルが観測されるところに負として、それぞれ現れた。

つぎに、PCAで得られたもう1つの情報であるスコアプロットを図5に示す。単独重合体とこれらの混合物のPC1スコアはTBMA組成の増加とともに

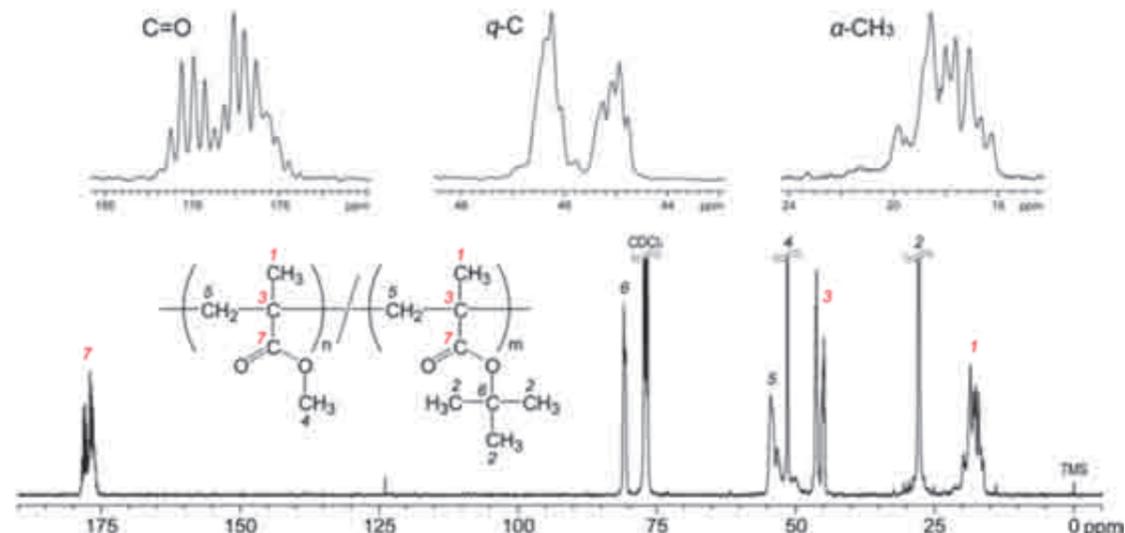


図3 メタクリル酸メチル (MMA)-メタクリル酸 t -ブチル (TBMA) 共重合体の¹³C NMRスペクトル (TBMA組成55.5 mol%、8wt/vol%、CDCl₃中55°C、100 MHz)

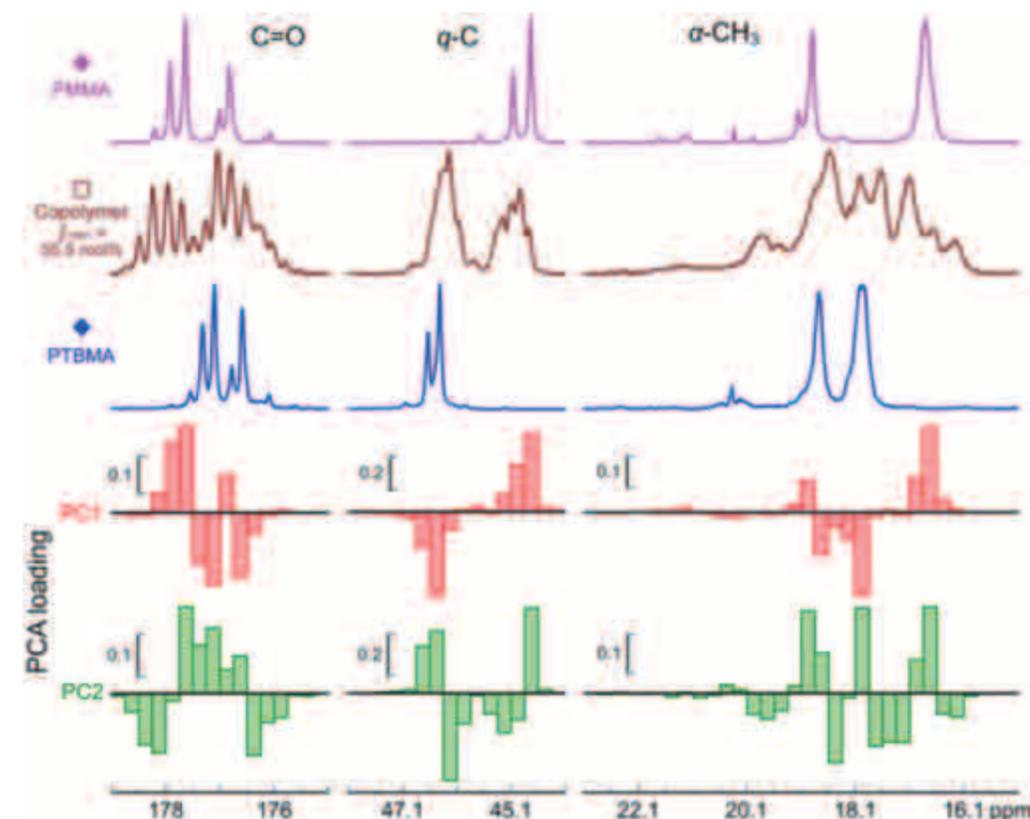


図4 PMMA、PTBMA、MMA-TBMA共重合体 (TBMA組成=55.5 mol%) の¹³C NMRスペクトルと、それらに対応する第1主成分 (PC1) および第2主成分 (PC2) ローディング

に単調に減少した。共重合体のPC1スコアも同様の傾向を示した。そこで、PC1スコアとTBMA組成の相関を調べたところ、相関係数 $R^2=0.998$ の直線となることから、PC1スコアは組成を反映することがわかった。一方、共重合体のPC2スコアは組成が等モル付近で最小となり、組成が偏るにつれて単独重合体に近づいた。PC2ローディングの

結果と併せて、PC2はモノマー連鎖の不連続性を反映していることが示唆された。モノマー連鎖の不連続性を定量的に表す指標として、2連子の異種2連子モノマー連鎖 f_{MT} (=ランナンバー^[33])を採用し、PC2スコアと f_{MT} の関係を調べた。 f_{MT} は、初期共重合体9種のMMA組成 F_{MMA} およびTBMA組成 F_{TBMA} と、モノマー反応性比 ($r_{MMA}=0.81 \pm 0.06$

と $r_{\text{TBMA}} = 1.26 \pm 0.03$ から、式 (1) によって理論値が求められる^[34]。

$$f_{\text{MT}} = \frac{4 \cdot F_{\text{MMA}} \cdot F_{\text{TBMA}}}{1 + \sqrt{1 + 4(r_{\text{MMA}} \cdot r_{\text{TBMA}} - 1)F_{\text{MMA}} \cdot F_{\text{TBMA}}}} \quad (1)$$

その結果、初期共重合体9種の f_{MT} と PC2 スコアは良い相関 ($R^2 = 0.996$) を示し、PC2 スコアは f_{MT} を反映していることが確かめられた。

そこで、単独重合体2種とこれらの混合物9種を検量用データとしたPLSRを行い、共重合体16種のTBMA組成を推定することを試みたところ、別途¹H NMR測定から求めたTBMA組成に対して、 $R^2 = 0.999$ 、相対標準偏差 (RSD) = 3.4% で一致した。この結果から、単独重合体とこれらの組成既

知の混合物を準備すれば、各モノマー単位に由来するNMRシグナルの帰属をしなくても、共重合体の組成を推定できることがわかった。

さらに、単独重合体2種と初期共重合体9種を検量用データとしたPLSRにより、初期共重合体の混合試料における2連子モノマー連鎖分布の推定を試みた。その結果、式 (2) および (3) で表される理論式^[34] から求めた同種2連子モノマー連鎖 f_{MM} 、 f_{TT} および f_{MT} に対して、 $R^2 = 0.995$ 、 $RSD = 2.6\%$ で一致した。

$$f_{\text{MM}} = F_{\text{MMA}} \left(1 - \frac{2 \cdot F_{\text{TBMA}}}{1 + \sqrt{1 + 4(r_{\text{MMA}} \cdot r_{\text{TBMA}} - 1)F_{\text{MMA}} \cdot F_{\text{TBMA}}}} \right) \quad (2)$$

$$f_{\text{TT}} = F_{\text{TBMA}} \left(1 - \frac{2 \cdot F_{\text{MMA}}}{1 + \sqrt{1 + 4(r_{\text{MMA}} \cdot r_{\text{TBMA}} - 1)F_{\text{MMA}} \cdot F_{\text{TBMA}}}} \right) \quad (3)$$

実際の高分子材料は、共重合体の精製工程や混合工程を経る場合が多いため、共重合体のモノマー連鎖分布は、初期共重合体の理論式から算出されたものと異なる。本手法を用いると、初期共重合体の¹³C NMRスペクトルとモノマー連鎖分布を検量用データとしているため、どのような操作や工程を経た共重合体であろうとも、より正確なモノマー連鎖分布を推定することができる。

つぎに、共重合体の一次構造の中でも、組成とモノマー連鎖とともに重要な立体規則性に関する解析を試みた^[35]。モデルポリマーとして、重合温度を-40℃から80℃に変化させ、組成が異なるMMA-TBMA共重合体25種を準備した。以下、バケット積分間隔を0.05ppmとした以外は、先述した手順と同様にしてPCAを行った。図6にPC1-PC2スコアプロットを示す。TBMA組成の増大とともに、PC1スコアが増大したため、PC1は共重合組成が反映されていることがわかった。一方、PC2スコアは、重合温度が低下するにつれて増大した。一般に、メタクリレートモノマーのラジカル重合では、重合温度の低下とともに、シンジオタクチシチー (m 連鎖に対する r 連鎖の割合) が増大することが知られている^[36, 37]。また、モノマーの種類によらず、 r 連鎖を含むNMRシグナルが正のPC2ローディングとして観測された。これらの結果から、PC2はシンジオタクチシチーを反映していることがわかった。

そこで、図6の網掛けで示した16種の共重合体を検量用データとしたPLSRを行い、残り9種の共重合体を「未知試料」として、その3連子立体規則性分率 (rr , mr , mm) の推定を試みた。なお、共重合体の rr , mr , mm は、TBMA単位を酸加水分解の後、メチルエステル化することによりPMMAへと変換した試料の¹³C NMRスペクトルから求めた。その結果、PLSRで予測した rr , mr , mm は、実測値に対して $R^2 = 0.825$ (rr)、 0.717 (mr)、 0.500 (mm)、 $RSD = 4.3\%$ (rr)、 10.1% (mr)、 26.0% (mm) で一致した。

3. MMA-TBMA-HEMA 三元共重合体の共重合組成とモノマー連鎖

MMA-TBMA二元共重合体の検討で、組成とモノマー連鎖分布に関する定量的な情報が得られたため、これら2成分にHEMAを加えた三元共重合体への拡張を試みた^[38, 39]。

試料として、MMA-TBMA二元共重合体の検討で用いた27種に加え、MMA-TBMA二元共重合

体と同様の条件で合成したHEMAの単独重合体 (PHEMA)、組成が異なる単独重合体3種の混合物25種、組成や収率が異なるMMA-HEMAおよびTBMA-HEMA二元初期共重合体各14種、組成が異なるMMA-TBMA-HEMA三元共重合体32種の合計113種を準備した。2系列の二元共重合体には、初期共重合体9種と、高重合率共重合体5種の2グループを、三元共重合体には、初期および高重合率の共重合体を16種ずつ、それぞれ準備した。

これら113種の試料の¹³C NMRスペクトルをCDCl₃/DMSO-*d*₆[4/6(mol/mol)]混合溶液中、55℃で測定し、カルボニル炭素 (173.0 ~ 177.0 ppm)、主鎖4級炭素 (41.5 ~ 45.5 ppm) および α -メチル炭素 (14.2 ~ 18.2 ppm) の各共鳴領域を0.05ppm間隔でバケット積分し、データの中心化と規格化を行った後、PCAを行った。

図7に三次元スコアプロットと、3つの主成分平面への投影図を併せて示す。PC1-PC2投影図で、3種の単独重合体を頂点とし、これらの混合物が面内を埋めるような三角相図が示された。この結果

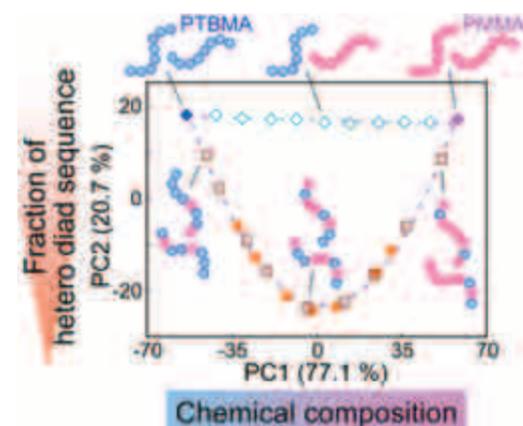


図5 PMMA (◆)、PTBMA (◆) およびそれらの混合試料9種 (◇)、組成の異なるMMA-TBMA共重合体16種 (□: 初期共重合体、■: それ以外) の¹³C NMRスペクトルのPCAスコアプロット

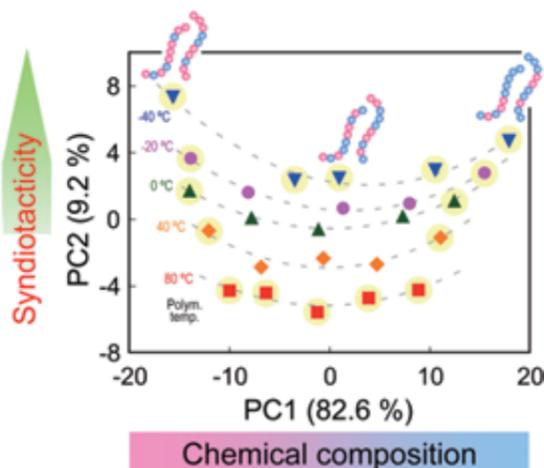


図6 重合温度と組成の異なるMMA-TBMA共重合体25種の¹³C NMRスペクトルのPCAスコアプロット。(■: 80℃、◆: 40℃、▲: 0℃、●: -20℃、▼: -40℃) 網掛けで示した試料をPLSRの検量用データとした

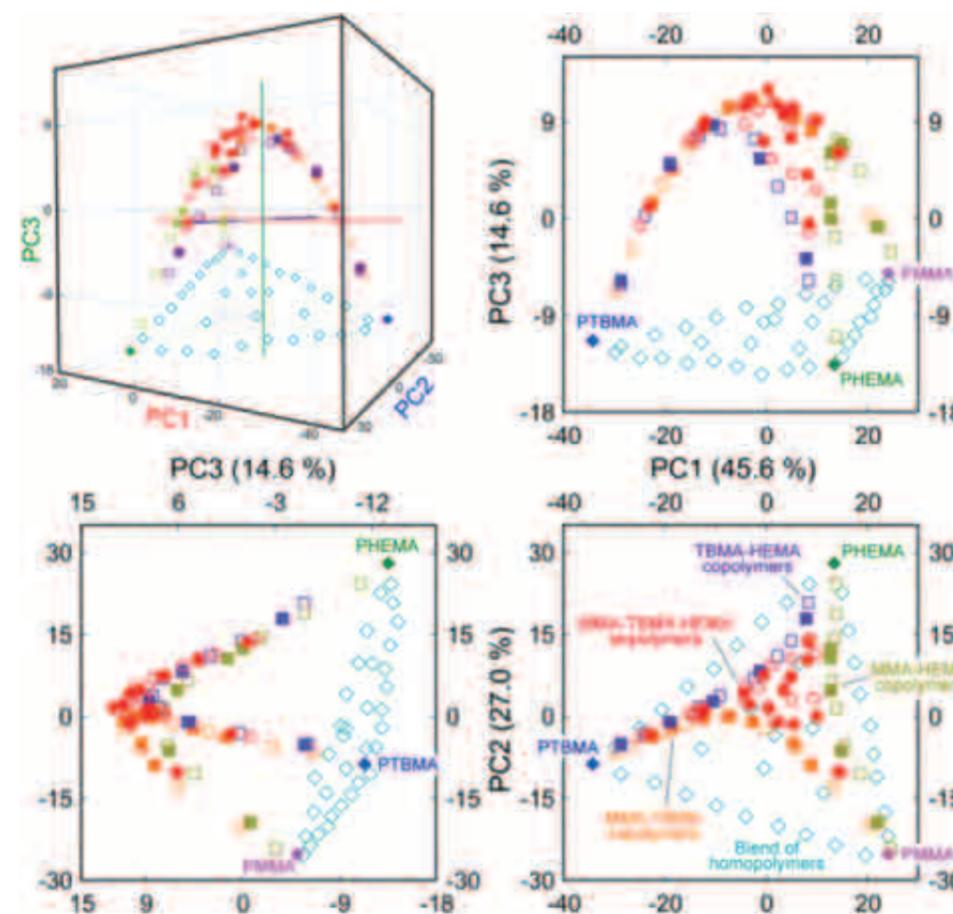


図7 PMMA (◆)、PTBMA (◆)、PHEMA (◆) およびそれらの混合試料 (◇)、組成の異なる3系列の二元共重合体 (□、□、□: 初期共重合体、■、■、■: それ以外)、三元共重合体 (○: 初期共重合体、●: それ以外)、計113種の¹³C NMRスペクトルのPCAスコアプロット

から、PC1とPC2のスコアの組み合わせが組成を反映することがわかり、PC1およびPC2ローディングの結果と矛盾しないことも確認された。

一方、PC1-PC3およびPC2-PC3投影図では、二元あるいは三元共重合体のPC3スコアは組成が等モル付近で最大となり、組成が偏るにつれて各単独重合体に近づいた。また三次元スコアプロットは、単独重合体とそれらの混合物で構成される平面を底面とし、3系列の二元共重合体が各側面となる三角錐を形成していたことから、PC3はモノマー連鎖の不連続性を反映していると考えられる。これは、MMA-TBMA二元共重合体の解析における考え方の拡張である。そこで、MMA-TBMA二元共重合体の場合と同様に、モノマー連鎖の不連続性を定量的に表す指標として3種存在する異種2連子モノマー連鎖 f_{MT} , f_{TH} , f_{HM} の総和 $f_{2hetero}$ を考え、PC3スコアと単独重合体3種および初期三元共重合体9種の $f_{2hetero}$ の関係を調べた。

三元共重合体の2連子モノマー連鎖も、その初期共重合体の組成とモノマー反応性比($r_{TBMA} = 1.16 \pm 0.12$ と $r_{HEMA} = 1.52 \pm 0.05$ (TBMA-HEMA共重合体)、 $r_{HEMA} = 1.44 \pm 0.03$ と $r_{MMA} = 0.73 \pm 0.04$ (HEMA-MMA共重合体))から、理論式(4)によって算出できる^[40]。

$$f_{ij} = F_i \times \frac{[M_j]/r_{ij}}{\sum_{h=1}^n [M_h]/r_{ih}} + F_i \times \frac{[M_i]/r_{ji}}{\sum_{h=1}^n [M_h]/r_{jh}} \quad (4)$$

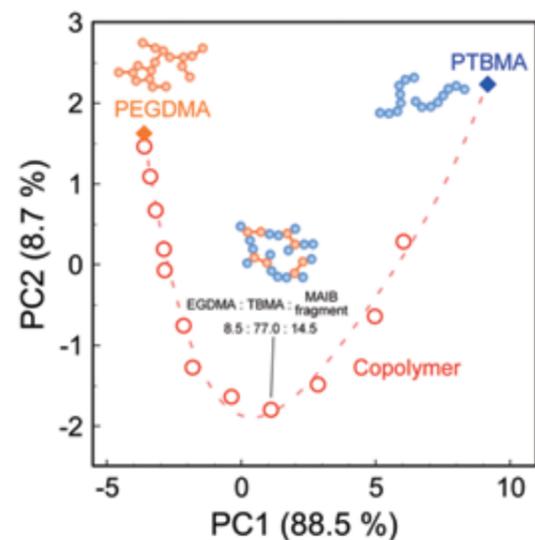


図8 EGDMA(◇)、PTBMA(◆)および組成の異なるEGDMA-TBMA高分岐共重合体12種(○)の¹³C NMRスペクトルのPCAスコアプロット

ここで、 $[M_j]$ はモノマー M_j の仕込みモノマー濃度、 r_{ij} はモノマー M_j に対するモノマー M_i のモノマー反応性比であり、 $r_{ii} = 1$ である。また F_i と F_j は、それぞれ初期共重合体中の M_i 単位と M_j 単位の組成である。得られた f_{MT} , f_{TH} , f_{HM} を合算した $f_{2hetero}$ とPC3スコアは良い相関($R^2 = 0.928$)を示したことから、PC3スコアは主として $f_{2hetero}$ を反映していることがわかった。

次に、単独重合体3種とこれらの混合物34種に3系列の二元共重合体44種を加えた81種を検量用データとしたPLSRにより、三元共重合体の組成を推定した。¹H NMR測定から別途求めた組成に対し、PLSRによって推定された組成は、 $RSD = 14.1\%$ (MMA組成)、 6.5% (TBMA組成)、 9.4% (HEMA組成)でそれぞれ一致した。また、上記81種の試料群を検量用データとした三元共重合体の f_{MT} , f_{TH} , f_{HM} をPLSRで推定したところ、理論式(4)^[40]から得られた値に対して、 $RSD = 19.9\%$ (f_{MT})、 12.1% (f_{TH})、 31.1% (f_{HM})でそれぞれ一致した。これらの結果から、実用的に十分な精度で三元共重合体の組成と異種2連子モノマー連鎖を推定できることがわかった。

4. TBMA-EGDMA 高分岐共重合体の分岐度

2つのビニル基を持つモノマーを用いた重合では、通常、三次元架橋した不溶性の重合体を得られるが、多量の重合開始剤を併用すると、溶媒に可溶性高分岐重合体が生成する^[41]。しかし、NMRによる高分岐共重合体のキャラクタリゼーションは、そのスペクトルが複雑かつブロードニングしているため容易でない。

重合開始剤として2,2'-アゾビスイソ酪酸ジメチル(MAIB)を、EGDMA濃度の約3倍(mol比)を用い、重合温度80°C、モノマー中のビニル基濃度0.3 mol/Lの条件で合成した高分岐単独重合体PEGDMAとPTBMA、および組成の異なるEGDMA-TBMA高分岐共重合体12種の合計14種の試料を準備した。

これらの試料について、カルボニル炭素(172.0~178.0 ppm)の共鳴領域を0.019 ppm間隔でバケット積分し、データの中心化と規格化処理を行った後、PCAを行った。得られたPC1-PC2スコアプロットを図8に示す。線状のMMA-TBMA二元共重合体では、TBMA組成の増加とともにPC1スコアが単調に変化した。高分岐共重合体ではTBMA組成の減少とともにPC1のプロット間隔が狭まった。また、線状共重合体では共重合組成が

等モル付近でPC2スコアが最小になったが、高分岐共重合体では、EGDMA:TBMA:MAIB断片=8.5:77.0:14.5(mol%)の組成で最小となった。線状共重合体とは異なるスコアプロットの形状になった理由は、PEGDMAのシグナルに対応するローディングが明確に現れなかったことと、178.5~179.5 ppmにかけて観測されるMAIB由来の末端基のシグナルがPC2ローディングに捉えられたためであった(図9)。

PCAでの結果を踏まえ、単独重合体2種とこれらの混合試料3種に、高分岐共重合体3種を加えたモデルを構築し、残りの高分岐共重合体9種の組成と分岐度^[42]の推定を試みたところ、別途¹H NMRスペクトルから求めた組成と、各組成から算出した分岐度に対して、PLSRによる推定値は、 $RSD = 9.6\%$ (EGDMA組成)、 3.4% (TBMA組成)、 5.7% (MAIB断片)、 4.3% (分岐度)で一致した^[43]。

5. ポリN-イソプロピルアクリルアミドの立体規則性の帰属

ポリN-イソプロピルアクリルアミド(PNIPAAm)は、感熱応答性を持つ高分子としてよく知られており^[44~46]、その相転移温度は立体規則性と密接な関係があることが報告されている^[47~49]。PNIPAAmの2連子立体規則性(m , r)に関する情報は、DMSO- d_6 中150°Cで測定した¹H NMRスペクトルから得られる^[50~53]。一方、混合溶媒(DMSO- d_6 :D₂O:PenOH-F₈=75:10:15 wt%)中100°Cで測定した¹³C NMRスペクトルでは、3連子立体規則性(mm , mr , rr)が帰属されている^[54~55](図10)。そこで、それぞれ異なる装置および条件で測定されたスペクトルの帰属の整合性を確認するために、多変量解析を用いて¹Hおよび¹³C NMRスペクトルの相関を調べた。この方法を、われわれは「統計的二次元NMR」とよんでいる^[56]。

N-イソプロピルアクリルアミドを種々の条件で重合し、 m/r 比の異なる8種のPNIPAAmを得た。これらの¹Hおよび¹³C NMRスペクトルを上述した条件で測定し、主鎖メチレン水素と主鎖メチン炭素のスペクトル領域を0.02 ppmおよび0.05 ppm間隔でそれぞれバケット積分した。データの中心化と規格化処理を行った後、PCAを行った。図11に立体規則性の異なる3種のPNIPAAmの主鎖メチレン水素と主鎖メチン炭素のNMRスペクトルと、それらに対応するPCAローディングを示す。

PC1ローディングは、主鎖メチレン水素領域に

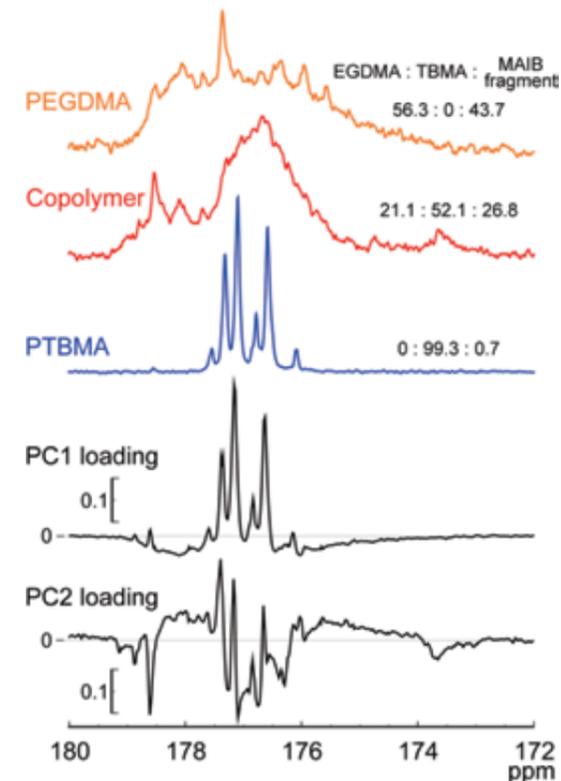


図9 PEGDMA、PTBMA、EGDMA-TBMA共重合体の¹³C NMRスペクトルと、それらに対応するPC1およびPC2ローディング

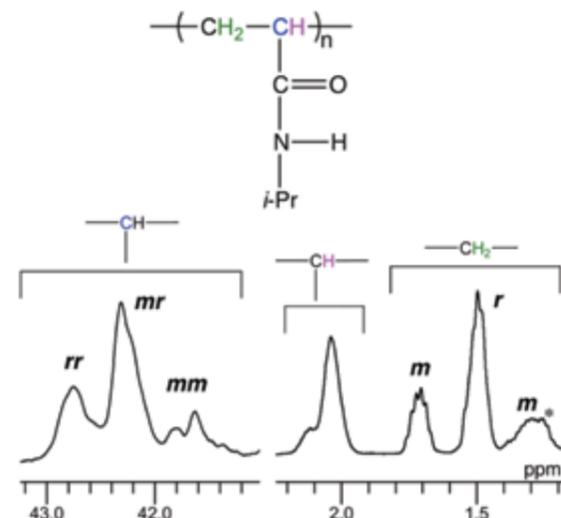


図10 (左) PNIPAAmのメチン炭素の¹³C NMRスペクトル(DMSO- d_6 :D₂O:PenOH-F₈=75:10:15 wt%混合溶媒中100°C)と、(右) PNIPAAmのメチンおよびメチレン水素の¹³C NMRスペクトル(DMSO- d_6 中150°C)。*は(CH₃)₂CH-の¹³Cサテライトピークを示す

において、 m -2連子のシグナルが観測されるところに正として、 r -2連子のシグナルが観測されるところに負として、それぞれ現れた。また、主鎖メチン炭素領域では、 mm -3連子のシグナルに正として、

rr-3連子のシグナルに負として、それぞれ現れた。つまりPC1は、立体規則性の中でもイソタクチシチー (*m*-2連子および *mm*-3連子) と、シンジオタクチシチー (*r*-2連子および *rr*-3連子) の情報を判別していると言える。

次に、PC2ローディングについて考える。主鎖メチン炭素領域では、*mr*-3連子のシグナルに負として、*mm*-および *rr*-3連子のシグナルに正として、それぞれPC2ローディングが現れた。この結果から、PC2はヘテロタクチシチー (*mr*連鎖を含む連子) か否かを判別していることがわかった。また、主鎖メチレン水素領域では、*m*-および *r*-2連子のシグナルに対して、それぞれ正負両方にPC2ローディングが現れたことから、4連子レベルの情報を示していると考えられる。例えば、主鎖メチレン水素領域で *m*-2連子に帰属されたシグナルのうち、負のPC2ローディングを示した部分は、主鎖メチン炭素から *mr*-3連子の情報も併せ持つことから、*rmr*-4連子であると帰属できる (赤色の網掛け部分)。同様に考えると、青色の網掛け部分は、*mrm*-4連子と帰属される。

このように、異なる装置および条件で測定された ^1H および ^{13}C NMR スペクトルの帰属は、PCAローディングを解析することで、いずれも正しいこ

とが確認できた。さらに、従来の方法では明らかでなかった4連子立体規則性の帰属にも成功した。本手法で得られる情報は ^1H および ^{13}C NMR シグナル間の統計的相関であり、一種の2次元NMRと考えることができる。

6. まとめ

アクリル系共重合体の ^{13}C NMR スペクトルを多変量解析することで、スペクトルの帰属なしに、共重合組成、モノマー連鎖、立体規則性に関する定量的な情報を得ることができた。本手法は、二元共重合体に留まらず、三元共重合体の解析へ拡張できることも確認できた。また、高分岐共重合体の解析では、この共重合体の特徴である開始末端基の組成や分岐度の定量的な情報も得られた。さらに、異なる装置や条件で得られたスペクトルの相関からシグナルを帰属する手法として、多変量解析が利用できることもわかった。このように本手法は、多成分共重合体をはじめ、複雑な構造情報を持つポリマーの新しいキャラクタリゼーション法として、実用的な高分子材料の一次構造解析、さらに一次構造と材料物性との関係解明など、様々な方面での応用が期待される。

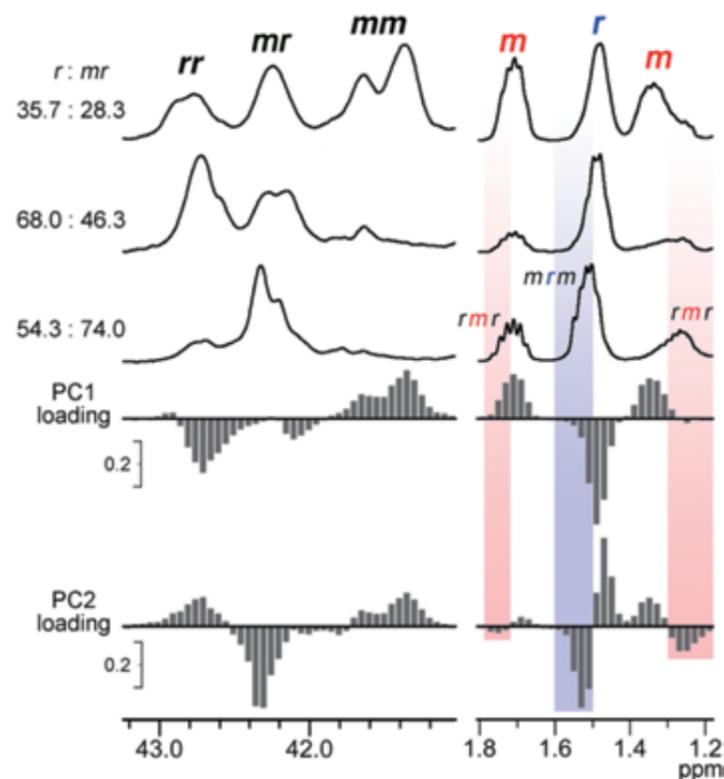


図11 立体規則性の異なるPNIPAAmの ^1H および ^{13}C NMRスペクトルと、それらに対応するPC1およびPC2ローディング

謝辞

本稿で述べた研究成果は、徳島大学工学部化学応用学科の服部康祐 (現日亜化学工業 (株))、前田智也 (現日本カーバイド工業 (株))、上池亮太 (現日本エイアンドエル (株))、直野辰哉 (現三菱レイヨン (株))、浅川聖子 (現 (株) ポラテクノ)、庵本卓也 (現アキレス (株)) の各氏の協力によって得られたものである。また、多変量解析のソフトウェアと有益な議論でご協力下さったJEOL RESONANCE株式会社の有福和紀氏に感謝する。

文献

- [1] Gutowsky, H. S., Saika, A., Takeda, M., Woessner, D. E. (1957) Proton magnetic resonance studies on natural rubber. II. Line shape and T_1 measurements. *J. Chem. Phys.* **27**, 534-542.
- [2] Nishioka, A., Watanabe, H., Abe, K., Sono, Y. (1960) Grignard reagent-catalyzed polymerization of methyl methacrylate. *J. Polym. Sci.* **48**, 241-272.
- [3] Bovey, F. A., Tiers, G. V. D. (1960) Polymer NSR spectroscopy. II. The high resolution spectra of methyl methacrylate polymers prepared with free radical and anionic initiators. *J. Polym. Sci.* **44**, 173-182.
- [4] Johnsen, U., Tessmar, K. (1960) Hochaufgelöste kernresonanzspektren von eutaktischen polymethylmethacrylaten. *Colloid Polym. Sci.* **168**, 160-161.
- [5] Katritzky, A. R., Weiss, D. E. (1976) Polymer microstructures and carbon-13 NMR. *Chem. Brit.* **12**, 45-51, 61.
- [6] 畑田耕一 (1989) 立体規則性・共重合体のモノマー連鎖分布. *高分子* **38**, 430-434.
- [7] Herbert, I. R. (1993) Statistical analysis of copolymer sequence distribution. *NMR Spectrosc. Polym.*, 50-79.
- [8] 北山辰樹 (1988) 高分子末端の構造解析. *高分子* **37**, 476-479.
- [9] 柘植新, 大谷肇 (1990) 高分子末端基のキャラクタリゼーション. *化学* **45**, 214-215.
- [10] Bevington, J. C., Ebdon, J. R., Huckerby, T. N. (1993) Solution-state NMR determination of polymer end-groups, substituents and minor structures. *NMR Spectrosc. Polym.*, 80-124.
- [11] 藤原譲, 網屋繁俊 (1978) ^{13}C NMRによる共重合体の連鎖分布の決定. *ぶんせき (Bunseki)*, 715-720.
- [12] Ando, I., Yamanobe, T., Asakura, T. (1990) Primary and secondary structures of synthetic polymer systems as studied by carbon-13 NMR spectroscopy. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **22**, 349-400.
- [13] Cheng, H. N. (1991) NMR characterization of polymers. *Chem. Anal.* **113**, 409-493.
- [14] Asakura, T., Demura, M., Hayashi, T. (1994) ^{13}C NMR assignments of polyolefins and olefin

copolymers based on the ^{13}C NMR chemical shift calculations and 2D INADEQUATE NMR. *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* **29**, 325-404.

- [15] Kraus, G., Childers, C. W., Gruver, J. T. (1967) Properties of random and block copolymers of butadiene and styrene. I. Dynamic properties and glass-transition temperatures. *J. Appl. Polym. Sci.* **11**, 1581-1591.
- [16] Tsvetkov, V. N. (1962) Stereoregularity and optical anisotropy of polymers. *J. Polym. Sci.* **57**, 727-741.
- [17] Momose, H., Wakabayashi, S., Fujiwara, T., Ichimura, K., Nakauchi, J. (2001) Effect of end group structures of methacrylate polymers on ArF photoresist performances. *SPIE Proc.* **4345**, 695-702.
- [18] Nishiura, T., Kitayama, T., Hatada, K. (2000) Carbon-13 NMR spectra of stereoregular copolymers of methyl and butyl methacrylates. *Int. J. Polym. Anal. Charact.* **5**, 401-413.
- [19] 尾崎幸洋, 宇田明史, 赤井俊雄 (2002) 化学者のための多変量解析. 東京, 講談社.
- [20] 長谷川健 (2005) スペクトル定量分析. 東京, 講談社.
- [21] 吉田欣史, 久原とみ子, 菊池淳 (2009) メタボロミクスとメタボノミクス. *ぶんせき (Bunseki)*, 317-378.
- [22] Holmes, E., Nicholls, A. W., Lindon, J. C., Ramos, S., Spraul, M., Neidig, P., Connor, S. C., Connelly, J., Damment, S. J., Haselden, J., Nicholson, J. K. (1998) Development of a model for classification of toxin-induced lesions using ^1H NMR spectroscopy of urine combined with pattern recognition. *NMR Biomed.* **11**, 235-244.
- [23] Fujiwara, M., Arifuku, K., Ando, I., Nemoto, T. (2005) Pattern recognition analysis for classification of hypertensive model rats and diurnal variation using ^1H -NMR spectroscopy of urine. *Anal. Sci.* **21**, 1259-1262.
- [24] Tarachiwin, L., Ute, K., Kobayashi, A., Fukusaki, E. (2007) ^1H NMR based metabolic profiling in the evaluation of Japanese green tea quality. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 9330-9336.
- [25] Tarachiwin, L., Katoh, A., Ute, K., Fukusaki, E. (2008) Quality evaluation of Angelica acutiloba Kitagawa roots by ^1H NMR-based metabolic fingerprinting. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **48**, 42-48.
- [26] Shimoyama, M., Hayano, S., Matsukawa, K., Inoue, H., Ninomiya, T., Ozaki, Y. (1998) Discrimination of ethylene/vinyl acetate copolymers with different composition and prediction of the content of vinyl acetate in the copolymers and their melting points by near-infrared spectroscopy and chemometrics. *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.* **36**, 1529-1537.
- [27] Shimoyama, M., Maeda, H., Matsukawa, K., Inoue, H., Ninomiya, T., Ozaki, Y. (1997) Discrimination of ethylene/vinyl acetate copolymers with different

- composition and prediction of the vinyl acetate content in the copolymers using Fourier-transform Raman spectroscopy and multivariate data analysis. *Vib. Spectrosc.* **14**, 253-259.
- [28] Hughes, J., Shanks, R., Cerezo, F. (2004) Characterisation of the comonomer composition and distribution of copolymers using chemometric techniques. *J. Therm. Anal. Calorim.* **76**, 1069-1078.
- [29] Axelson, D. E., Nyhus, A. K. (1999) Solid-state nuclear magnetic resonance relaxation times in crosslinked macroporous polymer particles of divinylbenzene homopolymers. *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.* **37**, 1307-1328.
- [30] Harris, D. J., Alam, M. K. (2002) Chemometric solid-state ^{13}C NMR analysis of morphology and dynamics in irradiated crosslinked polyolefin cable insulation. *Polymer* **43**, 5147-5155.
- [31] Momose, H., Hattori, K., Hirano, T., Ute, K. (2009) Multivariate analysis of ^{13}C NMR spectra of methacrylate copolymers and homopolymer blends. *Polymer* **50**, 3819-3821.
- [32] Momose, H., Maeda, T., Hattori, K., Hirano, T., Ute, K. (2012) Statistical determination of chemical composition and monomer sequence distribution of poly (methyl methacrylate-co-tert-butyl methacrylate) s by multivariate analysis of ^{13}C NMR spectra. *Polym. J.* **44**, 808-814.
- [33] Harwood, H. J., Ritchey, W. M. (1964) The characterization of sequence distribution in copolymers. *J. Polym. Sci. B: Polym. Lett.* **2**, 601-607.
- [34] Ito, K., Yamashita, Y. (1965) Copolymer composition and microstructure. *J. Polym. Sci. A: General Papers* **3**, 2165-2187.
- [35] Sakao, R., Naono, T., Asakawa, S., Momose, H., Maeda, T., Hirano, T., Ute, K. (2011) Analysis of stereoregularity of methacrylate copolymers by multivariate analysis of ^{13}C NMR spectra. *Polym. Prep. J.* **60**, 837.
- [36] Bovey, F. A. (1960) Polymer NSR spectroscopy. III. The rates of the propagation steps in the isotactic and syndiotactic polymerization of methyl methacrylate. *J. Polym. Sci.* **46**, 59-64.
- [37] Yuki, H., Okamoto, Y., Shimada, Y., Ohta, K., Hatada, K. (1979) Microstructure of the copolymers of methyl methacrylate with other methacrylates obtained by radical and anionic copolymerizations in tetrahydrofuran. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **17**, 1215-1225.
- [38] Naono, T., Momose, H., Hirano, T., Ute, K. (2010) Characterization of methacrylate terpolymers by multivariate analysis of ^{13}C NMR spectra. *Int. Symp. Polym. Anal. Char.* **2010**, 33.
- [39] Naono, T., Momose, H., Hirano, T., Ute, K. (2011) Determination of comonomer sequence distributions in methacrylate terpolymers by multivariate analysis of ^{13}C NMR spectra. *Int. Symp. Polym. Anal. Char.* **2011**, 98-99.
- [40] Price, F. P. (1962) Copolymerization Mathematics and the Description of Stereoregular Polymers. *J. Chem. Phys.* **36**, 209-218.
- [41] Hirano, T., Ihara, H., Miyagi, T., Wang, H., Seno, M., Sato, T. (2005) Formation of soluble hyperbranched polymer nanoparticles by initiator-fragment incorporation radical polymerization of ethylene glycol dimethacrylate. *Macromol. Chem. Phys.* **206**, 860-868.
- [42] Hawker, C. J., Lee, R., Frechet, J. M. J. (1991) One-step synthesis of hyperbranched dendritic polyesters. *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 4583-4588.
- [43] Momose, H., Kamiike, R., Hirano, T., Ute, K. (2011) Primary structural analysis of hyperbranched copolymers by multivariate analysis of ^{13}C NMR spectra. *Polym. Prep. J.* **60**, 3612-3613.
- [44] Heskins, M., Guillet, J. E. (1968) Solution properties of Poly (*N*-isopropylacrylamide). *J. Macromol. Sci., Part A: Chem.* **2**, 1441-1455.
- [45] Schild, H. G. (1992) Poly (*N*-isopropylacrylamide) : experiment, theory and application. *Prog. Polym. Sci.* **17**, 163-249.
- [46] Rzaev, Z. M. O., Dinçer, S., Pişkin, E. (2007) Functional copolymers of *N*-isopropylacrylamide for bioengineering applications. *Prog. Polym. Sci.* **32**, 534-595.
- [47] Ray, B., Okamoto, Y., Kamigaito, M., Sawamoto, M., Seno, K., Kanaoka, S., Aoshima, S. (2005) Effect of tacticity of poly (*N*-isopropylacrylamide) on the phase separation temperature of its aqueous solutions. *Polym. J.* **37**, 234-237.
- [48] Katsumoto, Y., Kubosaki, N. (2008) Tacticity effects on the phase diagram for poly (*N*-isopropylacrylamide) in water. *Macromolecules* **41**, 5955-5956.
- [49] Hirano, T., Okumura, Y., Kitajima, H., Seno, M., Sato, T. (2006) Dual roles of alkyl alcohols as syndiotactic-specificity inducers and accelerators in the radical polymerization of *N*-isopropylacrylamide and some properties of syndiotactic poly (*N*-isopropylacrylamide). *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **44**, 4450-4460.
- [50] Isobe, Y., Fujioka, D., Habaue, S., Okamoto, Y. (2001) Efficient lewis acid-catalyzed stereocontrolled radical polymerization of acrylamides. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 7180-7181.
- [51] Okamoto, Y., Habaue, S., Isobe, Y., Suito, Y. (2003) Stereocontrol using lewis acids in radical polymerization. *Macromol. Symp.* **195**, 75-80.
- [52] Kitayama, T., Shibuya, W., Katsukawa, K.-i. (2002) Synthesis of highly isotactic poly (*N*-isopropylacrylamide) by anionic polymerization of a protected monomer. *Polym. J.* **34**, 405-405.
- [53] Ito, M., Ishizone, T. (2006) Living anionic polymerization of *N*-methoxymethyl-*N*-isopropylacrylamide: Synthesis of well-defined poly (*N*-isopropylacrylamide) having various stereoregularity. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **44**, 4832-4845.
- [54] Hirano, T., Kamikubo, T., Okumura, Y., Sato, T. (2007) Heterotactic poly (*N*-isopropylacrylamide) prepared via radical polymerization in the presence of fluorinated alcohols. *Polymer* **48**, 4921-4925.
- [55] Hirano, T., Kamikubo, T., Okumura, Y., Bando, Y., Yamaoka, R., Mori, T., Ute, K. (2009) Heterotactic-specific radical polymerization of *N*-isopropylacrylamide and phase transition behavior of aqueous solution of heterotactic poly (*N*-isopropylacrylamide). *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **47**, 2539-2550.
- [56] Hirano, T., Anmoto, T., Umezawa, N., Momose, H., Katsumoto, Y., Oshimura, M., Ute, K. (2012) Application of multivariate analysis of NMR spectra of poly (*N*-isopropylacrylamide) to assignment of stereostructures and prediction of tacticity distribution. *Polym. J.* **44**, 815-820.



百瀬 陽 (ももせ・ひかる)

1995年 名古屋大学 工学部 卒業
 1997年 名古屋大学大学院 工学研究科 博士前期課程 修了
 1997年 三菱レイヨン(株) 中央技術研究所 入社
 2008～2011年 現職にて 徳島大学大学院 先端技術科学研究部 博士後期課程 在籍
 2011年 博士(工学)(徳島大学) 取得
 2012年 三菱レイヨン(株) アソシエイトリサーチフェロー 現在に至る
 2012年 日本核磁気共鳴学会会員



平野 朋広 (ひらの・ともひろ)

1995年 大阪大学 基礎工学部 卒業
 1996年 大阪大学大学院 基礎工学研究科 博士前期課程 修了
 1999年 大阪大学大学院 基礎工学研究科 博士後期課程 修了 博士(理学)(大阪大学) 取得
 1999年 徳島大学 助手
 2003年 徳島大学 講師
 2008年 徳島大学大学院 准教授 現在に至る



右手 浩一 (うて・こういち)

1981年 大阪大学 基礎工学部 卒業
 1983年 大阪大学基礎工学研究科博士前期課程 修了
 1985年 大阪大学基礎工学研究科博士後期課程 中退
 1985年 大阪大学 基礎工学部 助手
 1991年 工学博士(大阪大学) 取得
 1996年 大阪大学 基礎工学部 助教授
 2007年 徳島大学大学院 ソシオテクノサイエンス研究部 教授 現在に至る

高圧蛋白質 NMR

近畿大学先端技術総合研究所 高圧力蛋白質研究センター

赤坂 一之

プロローグ：

蛋白質 NMR スペクトルのパラドックス

溶液蛋白質 NMR を特別有用なものにしているのはそのシャープなスペクトル線です。このことに関連して以下の宣言文があります。若い人に聞こう。あなたは1～5について、どう思いますか？

1. 蛋白質の溶液中の NMR スペクトル線は通常非常にシャープである。これから蛋白質が1つの立体構造をもつことがわかる。
2. この場合、溶液中での NMR 構造解析により決定されるフォールド構造は蛋白質の機能をもつ構造であり、これを「天然構造」と呼ぶ。
3. 蛋白質の溶液中の構造と結晶中の構造は、たまに違うこともあるが、基本的には同じであるはずだ。
4. 蛋白質の溶液中の構造と結晶中の構造は詳しく言うと同じではない。前者には平均構造のまわりのランダムに揺らいでいるが、結晶中ではそれが抑えられている。
5. 溶液中の蛋白質構造のさまざまな揺らぎは、スピン緩和実験により検出することができる。(宣言文1～5に対する答えを、本解説を読んだ後に、もう一度考えてみてください。)

アブストラクト

蛋白質の立体構造は多数の、いわゆる“弱い結合”によって保たれている。それらは生理条件下でも揺らいでおり、また環境に応じて結合の相手を変えたり、切れたりすることもある。これらの“弱い結合”の揺らぎや変化は、個々別々に起こるものもあれば協同的に起こるものもある。これらは蛋白質立体構造の揺らぎとそれに基づく構造変化は、蛋白質機能の原動力となるものである。これらの“弱い結合”の揺らぎや変化を、個々に実験的に捉えることが可能だろうか？あるいはそれらの協同的揺らぎを捉えることが可能だろうか？その答えは高圧 NMR が与えてくれる。

1. はじめに—なぜ高圧 NMR か？

「体積」に着目する構造生物学

蛋白質は、数十億年の歳月をかけて、地球上の生命があらゆる側面で環境に適合して機能できるよう進化してきた。その成り立ちから必然的に、構造的のみならず熱力学的にも進化した分子である。

蛋白質の熱力学状態は温度と圧力によって規定される。温度の共役変数がエントロピーであるのに対して、圧力の共役変数は体積である。体積は蛋白質の“かたち”(立体構造)と直結し、マイクロには原子間距離と直結する。つまり圧力は、蛋白質の立体構造に直結する原子間距離のみを、直接変える唯一の外部パラメータである。

しかしこれまでの構造生物学において、蛋白質の体積及びその共役変数である圧力は、余り注目されることはなかった。その理由は、深海を除けば、地球上がほぼ1気圧に近い低圧で経緯し、そもそも高い圧力は生物の、そして蛋白質熱力学を規定する主たる環境要因とはならないと考えられたからだろう。そのため、蛋白質の体積は偏比容(グラム当たりの体積)として以外に、余り意識されることがなかった。さらに一般に、圧力は温度と比べて、より特殊な実験技術が要求されるため、蛋白質研究におけるその重要性が認識されないまま経過したのであろう。

蛋白質の「体積」の中身は何か？

蛋白質の体積といっても、溶液中であれば、まずそれは「部分モル体積」partial molar volume (PMV) であることに注意しよう。溶液中では溶質のみの体積というものを実験的に測定できず、測定できる体積は溶媒の水と不可分で、水和水を含めた「部分モル体積」(グラム当たりなら偏比容 partial specific volume という)であるからだ。以下で体積というのは部分モル体積の意味であるとご理解願いたい。

蛋白質の「部分モル体積」(PMV) には、様々な

異なるものが寄与すると考えられる。私の考えをまとめると以下になる。まず、(1)“共有結合体積”とも呼ぶべき体積(通常 van der Waals 体積と呼ばれる)：蛋白質分子を化学的に構成する N, C, O, H, S 等の原子とそれらの共有結合体がつくる体積 V_v (熱揺らぎはほとんどない)、(2)“弱い化学結合”(weak chemical bond) による体積：蛋白質の立体構造を保つ弱い化学結合、すなわち水素結合、van der Waals 結合、共有結合まわりの回転ポテンシャル、イオン結合、それに疎水性側鎖間のパッキング等で決まる体積 V_w (熱揺らぎが大きい)、(3) 蛋白質内部にしばしば存在する水分子が1～数個入る程度の空隙(キャビティー)の体積 V_c (熱揺らぎが大きい)、最後に(4) 水和相体積(厳密にはバルク水との体積差) ΔV_h ：すなわち蛋白質原子をとりまく水原子がつくる、バルク水とは異なる体積(熱揺らぎが大きい)、などの寄与が考えられる。すなわち、

$$PMV = V_v + V_w + V_c + \Delta V_h \quad (1)$$

V_v は蛋白質の一次構造で決まるが、その他の項 $V_w + V_c + \Delta V_h$ は、蛋白質の2次、3次、4次構造、さらに高次の凝集状態のかたちと安定性、それにかたちの揺らぎを決める構造要因であり、変化し易く温度に依存する。ずばり、これらは蛋白質のフォールディング構造を決める因子そのものである。 $V_w + V_c + \Delta V_h$ のそれぞれは生理条件下でも常に揺らいでいて、結果として立体構造が揺らぐ。これらの揺らぎが稀に協同的に起こると、内部に埋もれた Phe, Tyr ring の flip や、立体構造の異なる substate への、あるいは変性構造への転移をもたらす。

こう考えてくると、「体積」というパラメータが、蛋白質の立体構造と、さらにそれ決める部位特異的な原子間距離と直結するものであり、圧力がそれらを直接規定する唯一の外部パラメータであることは明白であろう。温度も熱膨張を通じてマイクロな原子間距離を変えるパラメータであるが、同時に熱振動状態を変えるため、一般には元の状態(生理条件下の“生”の状態)は“消失”する。この意味で、蛋白質分子に対する温度と圧力の効果は非常に異なるものであり、生理条件下の“生”の蛋白質の状態を知るためには、体積に作用する圧力の役割は極めて重要である。

体積揺らぎをマイクロに捉えることが可能か？

これまで、蛋白質の部分モル体積の揺らぎを検出する方法として、圧縮率の測定があった。圧縮率と体積揺らぎの間には次の関係式が成り立つと考えられている。

$$\langle (\delta V)^2 \rangle = k_B T V \beta_T \quad (2)$$

$\langle (\delta V)^2 \rangle$ は体積揺らぎの2乗平均、 k_B はボルツマン定数、 V は蛋白質の体積、 β_T は等温圧縮率係数、 T は絶対温度である。

上記関係式は、常圧近辺の比較的揺らぎが小さい範囲で蛋白質分子全体に対して成り立つマクロな関係式であり、圧縮率の測定から立体構造を規定する個々の部位特異的な揺らぎと直接結びつけることはできない。しかし月向は、この手法を多数の蛋白質に適用し、それらのデータの統計処理から蛋白質の体積揺らぎに寄与するマイクロな構造因子を推定する方法で、この努力に先鞭をつけた^[1]。

その後多次元 NMR の発展により、個々のアミノ酸部位の信号の分離特定が多くの蛋白質で可能となった。この新しい時代に、高度に発展した NMR 技術を圧力摂動と組み合わせることに成功した高圧 NMR^[2] によって、蛋白質の体積揺らぎを、それに寄与する個々の構造因子に分解して評価することが可能となった^[3]。また近年、高圧 NMR の結果を、進化した分子動力学計算と結合することによって、過去には圧縮率としてマクロにしか観測できなかった体積の揺らぎを、その源であるマイクロな原子間距離の変化として、可視化することにさえ成功した^[4]。さらに高圧蛋白質 NMR は、協同性が高いが変性には至らない、蛋白質の稀で大きな構造揺らぎの存在を、多数の蛋白質において疑問の余地なく示すこと^[5] で、蛋白質の構造及び揺らぎの概念を根本から拡大して見せた^[6-14]。

高圧蛋白質 NMR は、その厳しい技術的制約を超えても余りある、蛋白質にとって新規且つ本質的な情報を提供し得る点で、今後の利用拡大は必至である。より簡便で高感度のジルコニアセルの開発を経て、今後は国内外の多くの研究者がこの分野に参画し、質量ともに多様な展開がなされるであろうことは、たとえば最近、高圧 NMR による優れた研究が海外の研究者から発表され始めたこと^[15] から明らかであろう。高圧蛋白質 NMR は、甲斐荘の SAIL 法^[16] と並んで、日本の独自技術と発想により開かれた学問分野である点を強調しておきたい。

2. 高圧 NMR の実験装置

圧力の単位

まず圧力の単位を記しておく。

1 bar = 0.1 MPa (およそ 1 気圧) 1 kbar = 100 MPa

1 Pa (パスカル) = 1 N/m²

国際単位としては Pa が推奨されているが、bar も慣用として用いられる。

歴史的経緯

周知の通り NMR 分光学は光吸収、蛍光、赤外分光学などの光学とは異なり、信号検出には、非常に均一な静磁場の中に試料に近接してラジオ波コイルを設置することが必要である。これらの制限の下に強い静磁場内の隔離された狭い検出器内の試料溶液に、数千気圧の任意の高圧力の印加を安定的に実現するには、他の分光学の場合以上に、多くの技術的要因を克服しなければならなかった。

高圧容器法

数千気圧までの圧力を試料溶液にかけながら、NMR スペクトルを測定する方法には基本的に 2 つの方法がある。1 つは高圧容器法^[17]で、非磁性体で作った高圧容器内に NMR 検出器を収める方法で、検出コイルも試料溶液もすべて高圧力下にある。もう 1 つは耐圧試料セル法^[18]で、試料セル内の試料溶液には高圧がかかるが検出コイルを含め検出器系は 1 気圧下にある。前者の方法では高圧力の達成は容易だが、検出コイルのデザインや検出用ラジオ波パルスに制限があり、高圧蛋白質

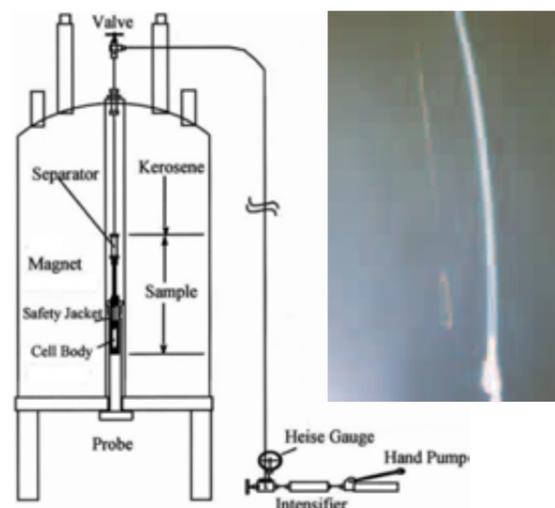


図1 耐圧セル法の基本的セットアップと耐圧セル(石英の例)。磁石、分光器、検出器には市販のものを使用する (ref. [2])

NMRへの適用はJonasにより始められMarkley, Ernstらにより開発が継続されたが、高い分解能の達成や多核多次元NMR測定には適さないため、蛋白質研究用としてはほとんど使われなくなった。しかし歴史的には水や水溶液のダイナミクス研究のため、低分子化合物の緩和測定等に対しては、現在まで高圧容器法による高圧NMR測定は重要な役割を果たしてきたことはLüdemann^[19]や中原^[20]らの貢献により明らかである。

耐圧セル法

一方で耐圧セル法では検出器にはメーカー製のNMR分光器がそのまま使えるため、高い分解能の達成や最新の多核多次元NMR測定が原則可能である。現在の蛋白質NMRにおいては高い分解能の達成や多核多次元NMR測定が必須条件であるため、耐圧試料セル法が可能な唯一の方法である。耐圧セル法は山田のガラスセル法^[20]を、70年代後半にWagner, MorishimaらがBPTIやヘム蛋白質に利用し、さらに90年代になって山田と赤坂が、石英耐圧セルを用いたオンラインセル型高分解能高圧蛋白質NMR法を開発して二次元NMRと組み合わせ、蛋白質の部位特異的構造変化と揺らぎの検出を可能にしたことにより、本格的な高圧蛋白質NMR研究が始まった(図1)^[2]。耐圧セル法では耐圧性・分解能共に優れたセルの製作と耐圧セル内の試料溶液の圧力を1~数千気圧の範囲で如何に安定的に保持するかが課題となる。セル材料としてはこれまでサファイアも試みられたが、利用できる圧力範囲は~2,000気圧以下である^[21]。石英耐圧セルは通常~3,000気圧程度まで可能であり、安全性、分解能とも申し分ない。唯すべて手作りである点、試料の種類(完全溶解性)と容量(内径1mm以下)に制限がある点で一般的な普及は難しい。

最近ではセル材料としてより堅牢で且つ内径のより大きなジルコニア製セル(内径2mm以上)が利用され始めている。Wandらのジルコニアセル^[22]は市販も始まっているが、セルの破損によるNMR検出器破損の危険性は排除できていない。近畿大学では独自にセラミックセルを開発中で、これを安全管理の下に使用している。今後は感度・取り扱いに優れたジルコニアセルが一般的な高圧蛋白質NMRの主流になるものと予想されるが、安全対策を含めて高圧NMR技術はまだ完成の域に達しているとはいえない。生体高分子への高圧NMRの適用は、当面、安全管理の行き届いたラボの協

力の下に行うことが推奨される。

3. 高圧蛋白質 NMR スペクトルの実際

高圧蛋白質NMRスペクトルの典型的な例をプロトン1次元と¹⁵N/¹H HSQCの例で示そう。

図2の蛋白質P13MTCP1のプロトンNMRスペクトルは、1気圧できれいなフォールド構造のスペクトルを示す^[23]。しかし加圧してゆくとスペクトルがどんどん変わって来る。この蛋白質の場合、300 MPaではほぼ完全にフォールド構造が見えなくなり、ほとんど変性構造のスペクトルを示す。温度変性と同様に、フォールド構造から変性構造への転移が起こったように見える。しかし温度変性との違いは二つある。

- 1) 1気圧に戻すとスペクトルは可逆的にもとのフォールド構造のスペクトルに戻る。
- 2) 加圧途中のスペクトルを詳しく見ると、1気圧でのフォールド構造のスペクトルと同じではなく、また変性構造のスペクトルとも同じではなく、圧力に応じて変化している。

図3のapomyoglobinの高圧2次元NMRスペクトル(¹⁵N/¹H HSQC)の例では、さらにその詳細が明らかになる^[24]。圧力を戻すとスペクトルは可逆的にもとのフォールド構造のスペクトルに戻るの

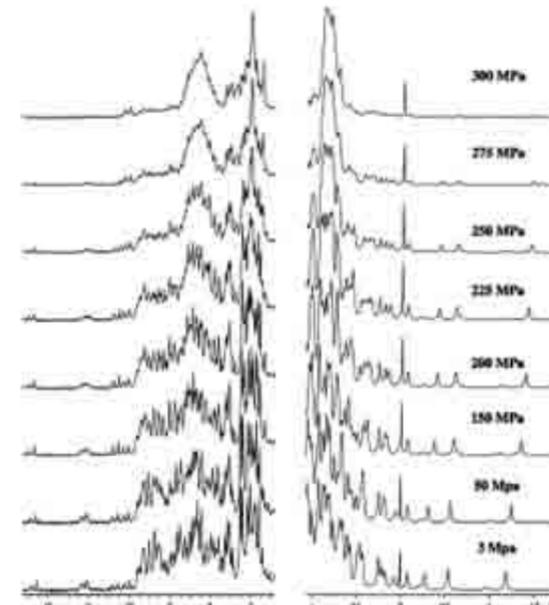


図2 圧力に対する蛋白質 P13MTCP1のプロトン NMR スペクトルの可逆的变化 (Fig. 3 in ref [23])

は同じだが、加圧途中のスペクトルは、1気圧でのフォールド構造のスペクトルと同じではなく、3,000気圧での変性構造のそれとも異なっている。部位特異的なシフトや信号強度の変化が起こり、結論から言うと中間の構造が生じていることを示している。

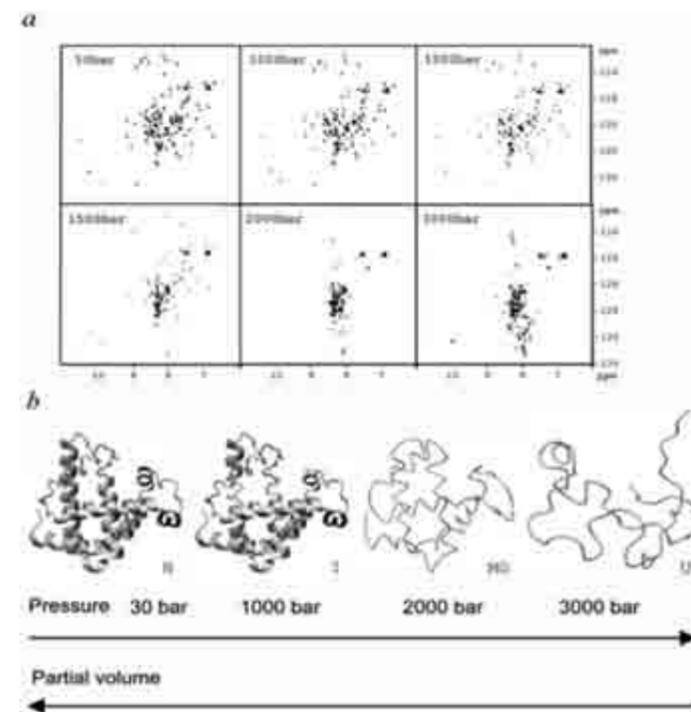


図3 圧力に対するアポミオグロビン¹⁵N/¹H HSQC NMR スペクトルの可逆的变化 (Fig. 5 in ref. [7])

- スペクトル変化
- スペクトル変化に対応するアポミオグロビンの構造変化(模式図)

圧力軸での熱力学平衡

一連のスペクトル変化は、これらの蛋白質には「多様な構造間に平衡があり、その平衡が圧力に依存して変わる」と考えることで理解できる^[2,10]。今、二つの異なる構造状態の間の平衡 $N \rightleftharpoons I$ だけに注目するとしよう。

平衡定数 K をきめる自由エネルギーの差 ΔG は、温度・圧力の2次項まで展開すると次式で与えられる。

$$\begin{aligned} \Delta G = & \Delta G^\circ - \Delta S^\circ(T - T^\circ) \\ & - \Delta Cp [T(\ln T/T^\circ - 1) + T^\circ] + \Delta V^\circ(p - p^\circ) \\ & - \frac{1}{2} V^\circ \Delta \beta (p - p^\circ)^2 + \Delta \alpha (p - p^\circ)(T - T^\circ) \end{aligned} \quad (3)$$

ここに ΔS° , ΔCp , ΔV° , $\Delta \beta$, T , p , α は、それぞれ状態間のエントロピー差、熱容量差、部分モル体積差、圧縮率差と絶対温度、圧力、熱膨張係数を示す。上付き“ $^\circ$ ”は標準状態を表す。通常、圧縮率 ($\beta = -(\partial \Delta V / \partial p)$) は体積が小さくなる方向を正と考えることに注意されたい。等温且つ圧縮率の差 $\Delta \beta$ の影響が小さい比較的低圧力領域では

$$\Delta G = \Delta G^\circ + \Delta V^\circ(p - p^\circ) \quad (4)$$

ΔG° は地表の蛋白質 (1気圧) のフォールド構造安定化の自由エネルギーである。実験室の加圧下では $P\Delta V$ の項が加わり、 $N \rightleftharpoons I$ の平衡定数 $K = [I]/[N] = \exp(-\Delta G/RT)$ が加圧とともに変化する。

蛋白質の体積則と高圧NMR実験のコンセプト

ここで重要なのは $\Delta V = V_I - V_N$ の符号と大きさである。 ΔV 自身は温度と圧力の関数であるが、温度は生理的温度条件、圧力は数千気圧以下に限定



図4 高圧蛋白質NMR実験のコンセプト^[6]
体積則 (蛋白質の部分モル体積は構造の崩れとともに減少する) により、加圧下の蛋白質の構造変化は常圧下のフォールディングとは逆の方向に起こる。

すると、われわれは多くの球状蛋白質について、 ΔV には一定の法則性が成り立つことを発見した。すなわち蛋白質の部分モル体積は、立体構造の崩れとともに減少する (蛋白質の体積則) (図4)^[24,10]。この経験的法則性を支えている分子機構は、蛋白質分子と水分子との接触面積の増大 (蛋白質分子の水和) による体積減少であり、中でも空隙 (キャビティー) の水和による体積減少の寄与が大きいと考えられる。水和に伴って空隙が埋まり、加圧すればするほど体積の小さな構造がより安定となり、それらがNMRで観測可能となる。最後は最も構造が崩れた変性構造が出現するが、その途中でさまざまな中間的体積をもつ中間体構造がそのポピュレーションを増し、そのNMRスペクトルが観測されることがある。その代表的な例の一つとして、ubiquitinの励起構造を挙げることが出来る^[5]。この場合、300 MPaで安定化される構造は水和が進行し、フォールド構造のうち、酵素結合部位が開いた活性型構造であった。この場合の ΔV は -24 ml/mol であった。温度を下げてさらに加圧すると最終的に変性構造が現れた^[25]。

以上で示した加圧下のubiquitinの振る舞いは多くの球状蛋白質に共通している。つまり、蛋白質は体積則に従い、加圧とともに構造が崩れた構造へと変化し、最終的に変性構造となる。それは多くの場合、中間体 (“高エネルギー”構造) を経て進行する。注意深く実験すれば、一般にこの変化は圧力に対して可逆的である。その様子を apomyoglobin を例として図4に示す。実験的に許される数千気圧までの範囲で、すべての蛋白質がフォールディングファネルの上部に位置する変性構造まで到達することはないが、多くの蛋白質でそれが可能である。重要なことは、中間体 (“高エネルギー”構造) はそれぞれの蛋白質に個性的な構造をもち、その多くは明らかに機能に特化した構造^[5,6]であり、別の場合は folding pathway に位置する中間体構造^[26]と認定される。

高圧NMRの適用可能な揺らぎの範囲

(大きさ時間域)

蛋白質構造の揺らぎには、substates内の小さな揺らぎからsubstatesを超える大きな揺らぎ (例: フォールド構造 \rightleftharpoons 中間体構造 \rightleftharpoons 変性構造) まである。さらにその先に、分子間相互作用の揺らぎ (例: モノマー \rightleftharpoons オリゴマー \rightleftharpoons アミロイド) がある^[27]。その時間域は極めて幅広いのが特徴で

ある。substates内の小さな揺らぎはps ~ ms、substatesを超える大きな揺らぎはmsからsecさらにhr以上にまで分布している。高圧NMRの特徴は、スピン緩和と異なり、これらのすべての時間域の現象が対象となることである。それらは加圧によるスペクトル変化 (化学シフトや信号強度の変化) を通じて検出することができる (本号、北原の稿参照)。一般には、加圧によるスペクトル変化がなければ揺らぎはほとんどないということであり、加圧による大きなスペクトル変化があれば、それは大きな揺らぎの存在を示唆する。さらに高圧NMRによる揺らぎ研究のもう一つの大きな特徴は、それらの揺らぎを具体的な構造変化として“可視化”が可能であることである^[4,5]。唯、平衡状態での高圧NMR測定からは、当然のことながら揺らぎの速度を定量化することはできない。

高圧NMRでms ~ sec ~ hrの遅い揺らぎ速度の定量化を行うには、圧力ジャンプ法を適用する^[27]。30ms程度のdeadtimeをもつ比較的速い現象に対して、最近Wernerらにより圧力ジャンプNMR装置が開発された^[28]。これによってスピン緩和時間T1より早い時間での蛋白質の構造転移が可能となり、異なる構造状態間での2次元相関NMRが可能となった。これは内藤・赤坂らが先にマイクロ波温度ジャンプを用いて開発した状態相関2次元NMR (State-Correlated 2D NMR)^[29]の圧力版であるが、蛋白質への適用に関しては、摂動の均一性と蛋白質構造転移の可逆性において温度版より優れていると思われる。

マイクロ秒〜ミリ秒程度の揺らぎの解析については高圧NMRに何らかのスピン緩和法を組み合わせる必要がある。Ubiquitinの構造転移速度 ($< \mu\text{s}$) の測定にはT2測定が用いられた^[5]。またaromatic ring-flip rate ($\sim \text{ms}$) の測定には、加圧下の線形解析が利用された^[30]。これらの場合に速度定数の圧力依存性から、貴重な活性化体積 ΔV^\ddagger に関する情報が得られる。線形解析が適用できない一般のms程度の揺らぎの定量化には、緩和分散法 (本号、菅瀬の稿参照) が適用できればベストである。

4. 天然構造のより統一的概念

われわれの高圧NMRの結果は、すべての蛋白質には基本フォールド構造の他に、何らかの高エネルギー構造をもつことを示した (図5)^[6~14]。高エネルギー構造はフォールドアンサンブル内に留まる場合もあれば、それを大きく逸脱する場合も

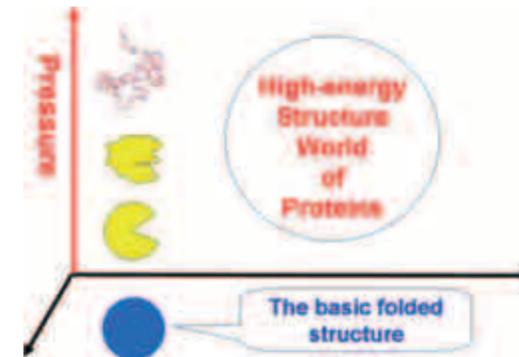


図5 蛋白質のより統一的概念 (Fig. 3 in ref. [12]より転載)。
蛋白質には結晶中や溶液中NMRで決定される安定フォールド構造に加えて“高エネルギー構造”とも称すべき領域があり、これにはフォールディング中間体や機能に直接関係する構造が含まれる。これらは生理条件下で安定フォールド構造と共存しているが、そのポピュレーションが小さいため通常のNMR測定では検出されない。高エネルギー構造は加圧によりその平衡濃度を増し、NMR解析が可能となる。

ある。ここで指摘しておきたいことは、それらの構造揺らぎは決して無目的でランダムな熱揺らぎばかりではなく、その蛋白質が機能を発揮するために特化した構造への揺らぎを含むことである。Frauenfelder^[31]がいきみじくも指摘したFIM = Functionally Important Motionのコンセプトが、新たなレベルで生きている。それらのsubstateは、それぞれの蛋白質がそれ独自の機能を果たすために、進化の過程で形成されたものと考えられる。蛋白質の重要な構造揺らぎは“でたらめには起こらない”のである。それは通常“minor state”として存在し、生理条件下の熱揺らぎで十分到達できる数kJ/mol上のlow-lying excited stateであることが多いが、数十kJ/mol程度の自由エネルギーをもつ高エネルギー構造であることもある。著者の見解によれば、高エネルギー構造を含むものが本来の蛋白質“天然構造”であり、図5がそのより統一的概念である。近年話題となっているintrinsically denatured proteinsも、このexcited stateがground stateに非常に低い位置にある特別の場合と考えられる。

広い構造空間を対象とするNMRへ

どのような励起構造をどの程度含むかは、進化によって規定される蛋白質の個性であり、蛋白質の機能に応じて千差万別である。多くの蛋白質が機能を果たすには、揺らぎで生じる特別な“かたち”をもつsubstateが必要であると考えられるから

である。その“かたち”(平均座標)と生理条件下でのポピュレーションを特定する役割が、高圧NMRに託された重要な役割の一つである。

今後の蛋白質構造学、特にNMRによる構造解析の対象は、最安定フォールド構造にとどまることなく、変性構造にまで至るより広い構造空間を対象にすべきであり、このために体積をパラメータとする高圧NMRが重要な役割を果たすことが出来る。

5. おわりに—高圧NMRの将来

地球上の生命はその進化の数十億年の間、ほとんど低圧環境下で推移したと考えられる(深海は最大で~1,000気圧)。人は季節の寒暖には対応できるが、圧力への対応はより難しい。微生物は数百気圧でその生育を止める。それなのになぜ生命の研究に圧力が必要なのか、をあらためて問う。

原子レベルでは数千気圧で共有結合を変えることはないが、例えば数十気圧の低い圧力でも、弱い相互作用が協同的に働いて、原子間距離やtorsion angleの変化を伴う蛋白質の2次、3次、4次構造と水和状態が一挙に変化することがあり得る。熱振動状態を変えない等温条件下で、原子レベルで原子間距離の変化を検出する実験手段は限られている。現代の高度に発展したNMR分光法がこれに最も適した手段の一つであり、これを実現したものが「高圧NMR」である。高圧NMRに刺激を受けて、すでに高圧分子動力学等の計算機科学^[32]、高圧X線結晶学^[13]が盛んになりつつある。これらの方法が相携えて、「圧力」を摂動として用いる新しい蛋白質構造学が、今後の蛋白質科学と生命科学をささえる重要な柱の一つとなることは必至と考えられる。

圧力で卵のゲル化が起こる現象が報告されてから既に1世紀を経過する^[33]。高圧NMRの出現によって、本来蛋白質に備わっていながら一旦NMRスペクトルの鋭い吸収線から見かけ上消えてしまったミクロな構造の揺らぎを、加圧によって取り戻し解析する道が開かれた。地球上の生命は無生物と同じ物質的存在でありながら、巧みに環境に応じて変化するダイナミズムを獲得している。著者の見解では、それを可能にする“からくり”は蛋白質のダイナミズムにある。その現実が続く限り、高圧NMRの有用性は将来にわたり開かれている。

謝辞

高圧蛋白質NMRの開発とその後の進展は多くの方々の努力のお陰である。まず耐圧石英セルを用

いた、蛋白質に適用可能なオンラインセル型高圧NMR装置の開発は、山田博昭氏の全面的技術協力によるものである。またその後の研究の進展は、貴重な蛋白質試料を提供していただき、毎年のワークショップを通じて研鑽を重ねた共同研究者達(特に日独仏英米の国際高圧コンソーシアム)がなければとても達し得なかった。また実質的にこれを動かしたのは並外れた熱意をもった大学院生、ポストドク達であった。これまで研究を支えてくれた神戸大学、理研、近畿大学関係者とJSPS、文科省関係者に、特に横山茂之氏には特別の謝意を表す。

参考文献

- [1] Gekko, K., Hasegawa, Y. (1986), Compressibility-Structure Relationship of Globular Proteins, *Biochemistry* **25**, 6563-6571.
- [2] Akasaka, K., Yamada, H. (2001). On-line cell high-pressure nuclear magnetic resonance technique: application to protein studies. *Methods Enzymol.* **338**, 134-158.
- [3] Li, H., Yamada, H., Akasaka, K. (1998), Effect of pressure on individual hydrogen bonds in proteins. Basic pancreatic trypsin inhibitor, *Biochemistry* **37**, 1167-1173.
- [4] Refaee, M., Tezuka, T., Akasaka, K., Williamson, M.P. (2003), Pressure-dependent changes in the solution structure of hen egg-white lysozyme, *J Mol Biol.* **327**, 857-865.
- [5] Kitahara R, Yokoyama S, Akasaka K. (2005) NMR snapshots of a fluctuating protein structure: ubiquitin at 30 bar-3 kbar. *J Mol Biol.* **347**, 277-85.
- [6] Akasaka, K. (2003). Exploring the entire conformational space of proteins by high-pressure NMR. *Pure and Applied Chemistry* **75**, 927-937.
- [7] Akasaka, K. (2003) Highly fluctuating protein structures revealed by variable-pressure nuclear magnetic resonance. *Biochemistry.* **42**: 10875-10885.
- [8] Kamatari YO, Kitahara R, Yamada H, Yokoyama S, Akasaka K. (2004) High-pressure NMR spectroscopy for characterizing folding intermediates and denatured states of proteins. *Methods* 133-43.
- [9] Lassalle MW, Akasaka K. (2006) The use of high-pressure nuclear magnetic resonance to study protein folding. *Methods Mol Biol.* **350**, 21-38.
- [10] Akasaka K. (2006) Probing conformational fluctuation of proteins by pressure perturbation. *Chem Rev.* **106**, 1814-1835.
- [11] Li H, Akasaka K. (2006) Conformational fluctuations of proteins revealed by variable pressure NMR. *Biochim Biophys Acta.* **1764**, 331-45.
- [12] Akasaka, K. (2010) High pressure NMR study of proteins-seeking roots for function, evolution, disease and food applications. *High Pressure Research*

30, 453-457.

- [13] Fourme, R., Girard, E., and Akasaka, K. (2012) High-pressure macromolecular crystallography and NMR: status, achievements and prospects. *Current Opinion in Structure Biology* **22**, 1-7.
- [14] Kitahara, R., Hata, K., Li, H., Williamson, M., and Akasaka, K., Pressure-induced chemical shifts as probes for conformational fluctuations in proteins *Progress in NMR spectroscopy*, accepted.
- [15] Nisius, L., Grzesiek S. (2012), Key stabilizing elements of protein structure identified through pressure and temperature, perturbation of its hydrogen bond network *Nature Chemistry* **4**, 711-717.
- [16] Kainosho, M., Torizawa, T., Iwashita, Y., Terauchi T, Mei Ono, A., Güntert, P. (2006) Optimal isotope labelling for NMR protein structure determinations. *Nature* **440**, 52-57.
- [17] Jonas, J., Jonas, A., (1994) High-Pressure Nmr-Spectroscopy of Proteins and Membranes, *Annu Rev Biophys Biomol Struct.*, **23**, 287-318.
- [18] Yamada, H., Pressure-Resisting (1974) Glass Cell for High-Pressure, High-Resolution NMR Measurement, *Review of Scientific Instruments* **45**, 640-642.,
- [19] Groβ, T., and H Lüdemann, H. -D., (1999) The density dependence of self-diffusion in some simple amines. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1**, 3503-3508.
- [20] Yamaguchi, T., Matubayasi, N., and Nakahara, M., (2004) NMR Study on the Reorientational Relaxation in Supercritical Alcohols. *J. Phys. Chem. A*, **108**, 1319-1324.
- [21] Reinhard, M., Kalbitzer, H.-R., and Kremer, W., (2003) High-sensitivity sapphire cells for high pressure NMR spectroscopy on proteins. *J Magn Reson.* **161**, 127-131.
- [22] Peterson R. W., and Wand, A. J., (2005): Self-contained high-pressure cell, apparatus, and procedure for the preparation of encapsulated proteins dissolved in low viscosity fluids for nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Rev Sci Instrum*, **76**, 1-7.
- [23] Kitahara R., Royer C., Yamada H., Boyer, M., Saldana, J. L., Akasaka K, and Roumestand, C., (2002) Equilibrium and pressure-jump relaxation studies of the conformational transitions of P13MTCP1. *J Mol Biol.* **320**, 609-628.
- [24] Kitahara, R., Yamada, H., Akasaka, K., and Wright, P. E. (2002) High pressure NMR reveals that apomyoglobin is an equilibrium mixture from the native to the unfolded. *J Mol Biol.*; **320**, 311-9.
- [25] Kitahara, R. and Akasaka, K. (2003) Close identity of a pressure-stabilized intermediate with a kinetic intermediate in protein folding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1003**, 167-3172.
- [26] Kamatari, Y. O., Smith, L. J., Dobson, C. M., and Akasaka, K. (2011) Cavity hydration as a gateway to unfolding: An NMR study of hen lysozyme at high pressure and low temperature. *Biophysical Chemistry* **156**, 24-30.
- [27] Kamatari, Y. O., Yokoyama, S., Tachibana, H., and Akasaka, K., (2005). Pressure-jump NMR study of dissociation and association of amyloid protofibrils. *J Mol Biol.*, **349**, 916-921.
- [28] Kremer, W., Arnold, M., Elisabeth, C., Hartl, M. R., Erlach, M. B., Koehler, J., Meier, A., and Kalbitzer, H. R. (2011), Pulsed Pressure Perturbations, an Extra Dimension in NMR Spectroscopy of Proteins. *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 13646-13651.
- [29] Naito, A., Imanari, M., and Akasaka, K. (1996) State-correlated two-dimensional NMR spectroscopy: Separation of local dipolar fields of protons in nematic phase of 4-methoxybenzylidene-4-acetoxyaniline. *J. Chem. Phys.* **105**, 4504-10.
- [30] Li H, Yamada H, Akasaka K. (1999) Effect of pressure on the tertiary structure and dynamics of folded basic pancreatic trypsin inhibitor. *Biophys J.* **77**, 2801-12.
- [31] Frauenfelder, H.N., Alberding, N.A., Ansari, A., Braunstein, D., Cowen, B.R., Hong, M.K., Iben, I.E.T., Johnson, J.B., Luck, S., Marden, M.C. et al. (1990) Proteins and Pressure, *J. Phys. Chem.* **94**, 1024-1037.
- [32] Imai, T., and Sugita, Y., (2010) Dynamic Correlation between Pressure-Induced Protein Structural Transition and Water Penetration. *J. Phys. Chem. B*, **114**, 2281-2286.
- [33] Bridgman, P. W. (1914). The coagulation of albumen by pressure. *J. Biol. Chem.* **19**, 511-512.



赤坂一之 (あかさか かずゆき)

1962年大阪大学工学修士、1965年京都大学理学博士、1966~68年米フルブライト留学を契機にESRからNMRに転じる。京大助手、助教授、神戸大教授、近畿大教授を経て現在近畿大客員教授。初期はスピン緩和による核酸分子の構造とダイナミックスの研究、その後温度ジャンプ/状態相関NMR法の開発を経て、1996年神戸大学にて高圧蛋白質NMR法を開発、理研播磨研究所にてこれを展開、近畿大学にて高圧力国際協力プロジェクトを主宰し、2008年近畿大学高圧力蛋白質研究センター設立。日本核磁気共鳴学会名誉会員、インド磁気共鳴学会名誉会員、独フンボルト賞受賞、文部科学大臣表彰。2002年~日本核磁気共鳴学会会員、2002~2006年同評議員。

高圧力NMR法で観る 蛋白質の高エネルギー構造

立命館大学 薬学部薬学科

北原 亮

ポリペプチドである蛋白質は、疎水性相互作用や水素結合など比較的低エネルギーの非共有結合の力により、その立体構造を形成することができる。しかしながら、その立体構造の安定性はアンフォールドしたポリペプチド鎖に対して精々～50kJ/mol程度の安定性である事が知られている。これは、水素結合に換算すると数個分程度の「marginal stability」であるともいえるが、このようなmarginal stabilityにより、蛋白質は熱揺らぎや分子間相互作用を通して容易に形を変え機能を発揮すると考えられる。

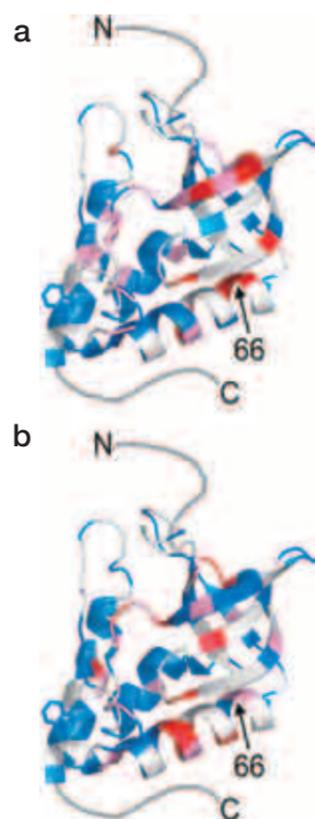


図1 ^{15}N 化学シフト値の非線形解析。線形項(a)と非線形項(b)の平均値からのずれの程度を立体構造上に示した図。 2^* RMSD以上のずれは赤、 2^* RMSD $> x > 1^*$ RMSDのものはピンク、 1^* RMSD以下のものは青で示した(灰色はデータなし)。66は変異部分(V66K)を示す(文献3)。

著者は、高圧力NMR法により蛋白質の天然状態を逸脱した高エネルギー状態の構造や機能の研究を行っている。蛋白質構造は形が壊れるほどキャビティーが消失し部分モル体積が減少するため(蛋白質構造の体積原理)^[1]、高圧力下では天然状態を逸脱した高エネルギー状態(準安定状態や変性中間体)が安定化され、NMRによる直接的なスペクトル観測や立体構造解析、熱力学量の解析が可能となる。詳細は本号の赤坂の解説を参照されたい^[2]。本報では、特に高圧力下での化学シフト解析、信号強度解析について述べ、高圧力下で観測される高エネルギー状態と常圧下で R_2 緩和分散NMR法、水素/重水素交換NMR法で観測されるそれらとの比較を紹介する。

化学シフト解析から観える速い構造転移

高圧力下で部分モル体積の小さい構造、すなわちポケットが開いて水和したようなOPEN型構造や部分的に形が壊れた局所変性構造が安定化される^[1]。交換速度が化学シフト差より十分に速い場合は、分布率に応じて平均化された1つの信号として観測される。2状態転移を仮定する場合、2状態の化学シフト値(δ_1 , δ_2)と観測値(δ)の差として式1のように平衡定数 K を定義できる。平衡定数とギブス自由エネルギー差 ΔG は式2の関係にある。また ΔG を圧力に対して1次項まで展開すると式3ようになる。2次項は圧縮率差($\Delta\beta$)であるがフォールド状態間の $\Delta\beta$ は小さいこともあり比較的低下下(～数千気圧)では無視できる。式1～3より、観測する化学シフト値 δ は式4になり、シグモイド状の軌跡を与える。通常はそれぞれの状態で構造や化学結合に圧縮が生じるので、 δ_1 , δ_2 ともその圧力依存性(傾き)を考慮する方が正確となる($\delta_1 = Ap + B$ など)。式4を用いることにより熱力学に基づく定量的な解析が可能となるが、変数が多くなるため、実際にはグローバルフィッティング(ΔG^0 と ΔV^0 は共通項とする)や、 δ_1 , δ_2 の傾

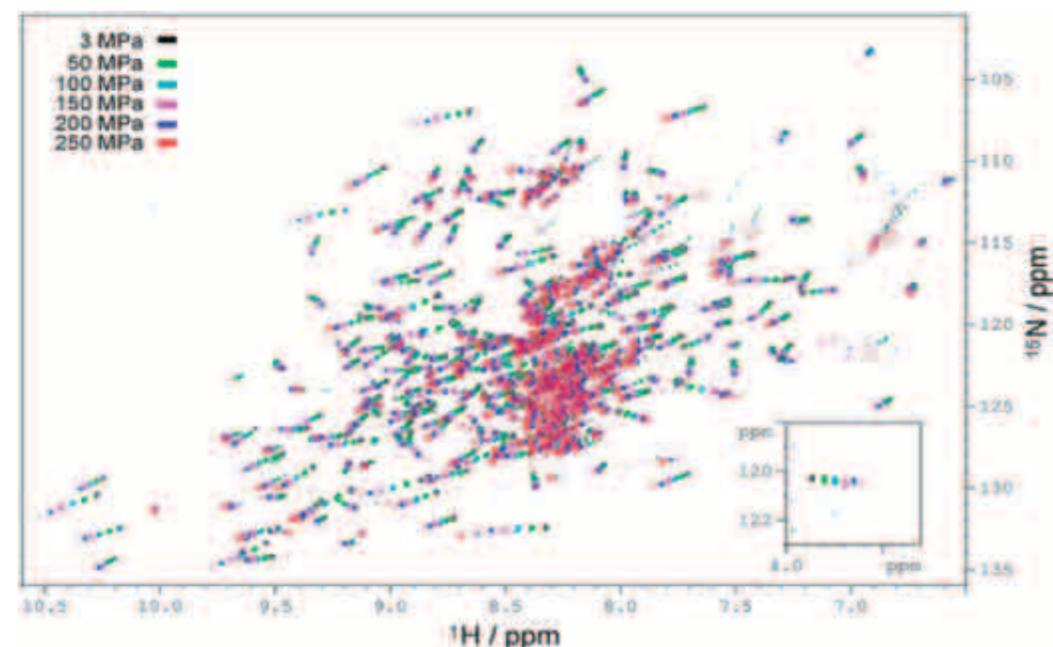


図2 OspAの圧力可変時(3～250MPa)の ^{15}N TROSYスペクトルの重ね合わせ(40°C)(文献7)

きには統計的に妥当な定数を設定して解析を行う。

$$K = [\text{N}_2]/[\text{N}_1] = (\delta_1 - \delta) / (\delta - \delta_2) \quad (1)$$

$$K = \exp[-\Delta G/RT] \quad (2)$$

$$\Delta G = \Delta G^0 + \Delta V^0(p - p_0) \quad (3)$$

$$\delta = \frac{\delta_1 + \delta_2 \exp\left\{\frac{\Delta G^0 + \Delta V^0(p - p_0)}{RT}\right\}}{1 + \exp\left\{\frac{\Delta G^0 + \Delta V^0(p - p_0)}{RT}\right\}} \quad (4)$$

良好な解析を行うためには十分な圧力範囲と測定点が必要となるが、蛋白質の性質や耐圧NMRセルの圧力限界により、転移の全体像を捉えられない場合が多い。そこで構造転移を簡便に捉える半定量的な解析手法を紹介したい。

異なる状態に転移する場合、特に構造が変わる部位においては、1気圧における化学シフト値(δ_1 , δ_2)やそれらの圧力や温度依存性(傾き)が変化する。その場合、分布率の変化に伴い非線形的に化学シフトが変化するだろう。そのため非線形性は1気圧における化学シフト値の差や状態間の圧力依存性の差に概ね比例する。そこで非線形性を2次式($\delta = Ap^2 + Bp + C$ など)で表現すると、1次項(B)は初期状態すなわち天然状態の圧縮のスケールに相当し、2次項(A)は状態変化の程度を示すスケールとなる。

図1はSNase変異体($\Delta\text{PHS} + \text{V66K}$)における高圧力NMR測定の ^{15}N 化学シフト値の結果を示す^[3]。

図1aは1次項をbは2次項を示す。SNaseのパレル構造を形成する β シート領域で1次項の変化が大きい(赤>ピンク>青、灰:データなし)ことから、それらの領域では高い圧縮率を持つことが示唆される。また2次項の大きい部分(色付けはaに同じ)はループやターン領域で比較的多く、これらの部分では高エネルギー状態でコンフォメーションが大きく変化すると考えられる。大変興味深いことに、2次項の大きい部分は ^{15}N - R_2 緩和分散を示す部分とも概ね一致している(原著論文図2b参照)^[3]。 R_2 緩和分散においても、状態間で ^{15}N 化学シフト差が大きい部分で大きな緩和分散を示すことから両結果の一致は頷ける。この一致は、化学シフト変化の圧力応答の非線形解析によっても、高エネルギー状態の分布や、構造変化の大きい部分を上手く捉えていることを示す。 R_2 緩和分散は100 μs -10ms程度で生じる状態転移に敏感な手法であり、それから外れる状態転移の場合は良好な緩和分散が観られないが、化学シフト解析では、速い交換条件において時間スケールに関係なく非線形性が観測できる。摂動に対する化学シフトの非線形的な応答は、高エネルギー状態の分布増加を定量的に示すものであり、圧力だけでなく温度^[4]、変性剤^[5]変性でも類似の解釈が成り立つ。

信号強度解析から観える遅い構造転移

状態間の交換速度が化学シフト差より十分に遅い場合は、スペクトル上で異なる信号として観測

される。そのため圧力や温度を変えることにより信号強度の変化として分布率を見積もることができる。

本章ではライム病を引き起こすスピロヘータの感染に重要な働きをする膜上蛋白質 Outer Surface Protein A (OspA) の変性中間体について紹介する。ライム病の詳細についてはCenters for Disease Control and Prevention, USAのウェブサイトなどを参照されたい^[6]。OspAは31 kDaで21本の β -ストランドをもつ特徴的な β シート構造を有し、N末

端ドメイン、C末端ドメインと中央に露出したシート構造を有する(図3c)。N末端でスピロヘータの脂質膜と共有結合しており、他方のC末端ドメインには媒体するダニの腸管に存在するレセプターの結合サイトを有しているが、結合サイトはドメイン内部にあるため、レセプターとの相互作用には結合サイトの露出を伴う構造変化が必要と考えられている。またOspAはライム病予防のワクチンとしても使用された経緯があり、抗体結合サイトもC末端ドメインにある。このように、レセプター認識

機構や不活化ワクチンの設計という観点からOspAの構造揺らぎと物性研究が大切である。

図2はTROSYスペクトルの圧力依存性を示す(0.1 MPa = 1 bar)^[7]。多くのアミドH, N信号が低磁場シフトを示すが、これは水素結合の圧縮や二面角の変化により説明される。ここでも圧力に対するH, Nの化学シフト変化の非線形解析を行うことによりフォールド構造内での構造揺らぎを調べることができるが、詳細は原著論文を参照されたい。興味深い点は、多くの信号で加圧とともに信号強度が減少し(図3a)、250 MPaではスペクトルの中央部分に多数の信号が出現する点である。一般に水和したランダムコイルペプチドは立体構造の影響が小さくなり類似の共鳴周波数(¹H 8~9 ppm, ¹⁵N 110-130 ppm)を持つようになる。よってスペクトル中央部に多数の信号が出現したことは、加圧により局所的に変性状態に移したことを示す。250 MPaにおける信号強度を常圧下のそれと比較すると(図3b)、中央ドメインとC末端ドメインを中心に信号強度が50%以下に減少することが分かる。中央からC末端までの約150残基は概ね協同的に変性状態に移することから(図3a, 3c)、天然状態から変性中間体への構造転移と解釈できる。また1次元NMRスペクトル測定によりメチル基(L109, V199)をプローブとしても構造転移を確認した。さらにC末端領域にはW216が存在するため、高圧力蛍光法によってもC末端領域の構造転移を確認した。NMR信号強度の変化から天然状態と変性中間体の平衡定数の圧力依存性の算出が可能となる。1気圧における ΔG^0 は 32 ± 9 kJ/mol、体積変化 ΔV^0 は -140 ± 40 mL/molと算出された。OspAはC末端ドメインに130 mL/mol程度(図3c)に相当する大きなキャビティーを持っているため、変性に伴うキャビティーの消失が負の体積変化の要因と考えられる。

次に、高圧力下で安定化された変性中間体と水素/重水素交換-NMR法で観測された構造揺らぎを比較したい。図3dは水素/重水素交換NMR法により得られた保護因子であり、溶媒との交換のし難さのスケールである。中央やC末端ドメインは、N末端ドメインに比べ10~100倍保護因子が低く、 ΔG^0 にして20-30 kJ/mol程度の安定性で見積もられ、高圧力実験から得られた値と概ね一致している。両者について構造的特徴と安定性の特徴の一致が見られた事は、高圧力下で安定化された変性中間体は、生理条件下の中間体と同じで

あることを示す。 ΔG^0 から変性中間体は1気圧では0.001%程度しか存在しないことになるが、生理条件下では分子間相互作用によりその分布率は制御されていると考えられる。変性中間体への構造転移により150残基程度が変性状態に移しレセプター認識部位が露出すると、アームのごとく遠方まで伸びレセプターを認識することもでき、機能的な構造と考えられる。

高圧構造生物学のはじまり

高圧力下で安定化される高エネルギー状態の特徴は、水素/重水素交換法や R_2 緩和分散法など常圧下で観測された特徴と良い一致を示す。またユビキチンの局所変性状態については、速度論的な中間体と一致した^[8]。強調したい特徴は、高圧力実験では高エネルギー状態の分布率を直接的に増加させていることであり、立体構造解析が可能である点である。筆者が使用している方法は、肉厚の石英キャピラリー(内径1 mm程度)を使用するので感度が悪く、これまでNOEに基づく高エネルギー状態の立体構造解析はユビキチンの例に限られている^[9]。しかし化学シフト変化量を擬ポテンシャルに用いた計算科学的手法がWilliamsonらにより開発され、これまでにBPTIやproteinG、lysozyme、barnaseについて高圧力下の立体構造が計算されている^[10]。近年、内径3 mmで2,500気圧程度まで測定可能なセラミクスセルも発売されており^[11]、膜蛋白質や可溶性の低い蛋白質への適応も期待される。高エネルギー構造の立体構造解析が進めば、高エネルギー構造を対象とした分子標的医薬品の開発などNMRによる新しい構造生物学の展開が期待できる。

謝辞

本報で紹介したSNase変異体やOspAの高圧力NMR研究は、赤坂一之先生(近畿大学)らとの共同研究により行われた成果である。また理化学研究所播磨研究所のNMR装置の利用に際しては横山茂之先生、城宜嗣先生のご協力に感謝いたします。

参考文献

- [1] Kitahara, R., Yamada, H., Akasaka, K., and Wright, P. (2002) High pressure NMR reveals that apomyoglobin is an equilibrium mixture from the native to the unfolded. *J. Mol. Biol.* **320**, 311-319.
- [2] 赤坂一之 NMR学会誌, **3**, 38-45.

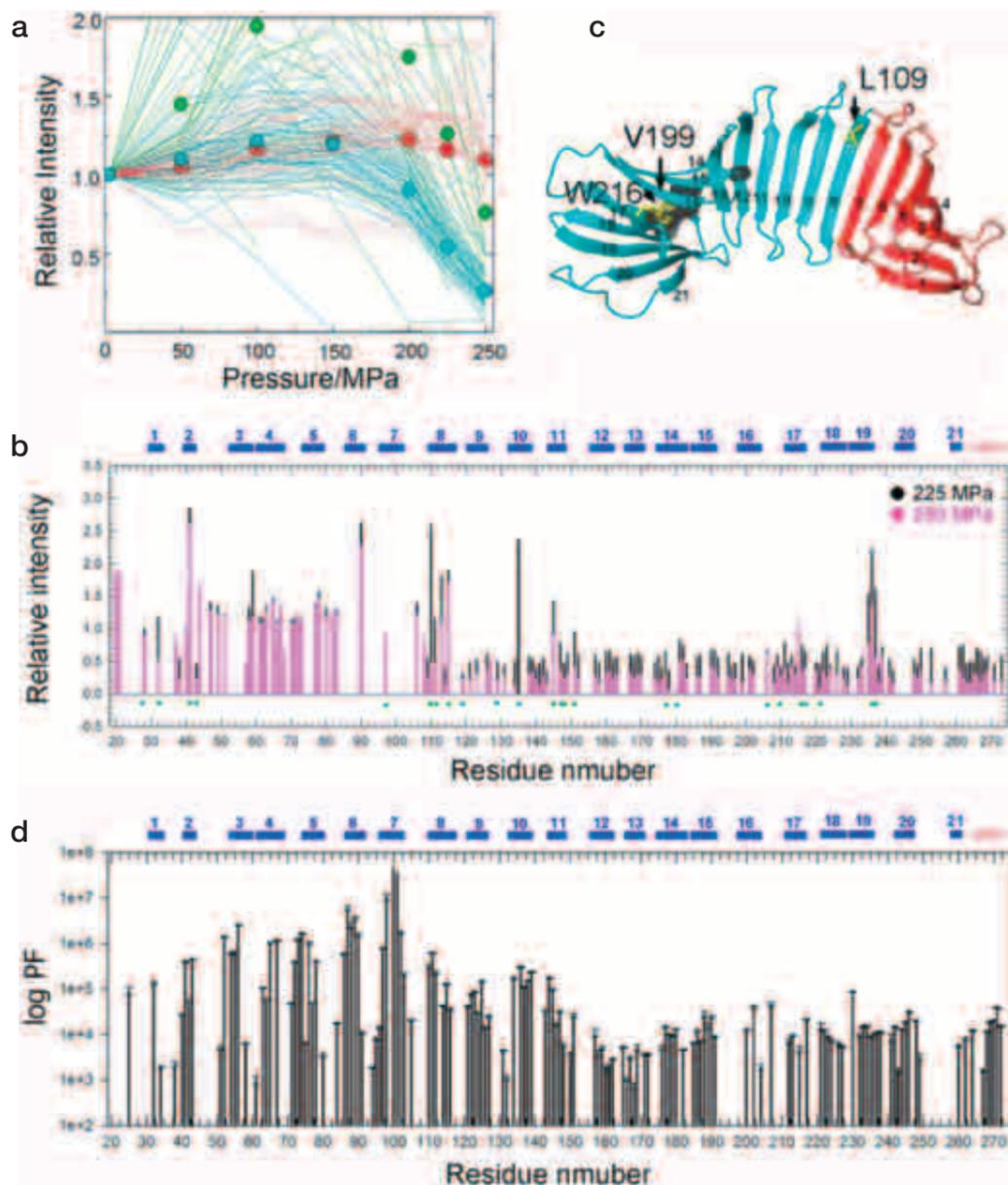


図3

(a) TROSYスペクトルにおけるピーク強度(体積)の圧力依存性。(b) 3 MPaで規格化した場合の225 MPaと250 MPaの信号強度。(c) OspAの立体構造と信号強度が選択的に減少した領域。250 MPaで信号強度が50%以下に低下した中央部とC末端ドメインを青、変化が小さいN末端ドメインを赤で示した。キャビティーを灰色で示した。L109, V199, W216の側鎖をスティックで示した。(d) 水素/重水素交換における保護因子(PF)の大きさを常用対数で示した。b, cのパネル上部には2次構造を示した(文献7)。

- [3] Kitahara, R., Hata, K., Maeno, A., Akasaka, K., Chimentì, M. S., Garcia-Moreno, B. E., Schroer, M. A., Jeworrek, C., Tolan, M., Winter, R., Roche, J., Roumestand, C., de Guillen, K. M., and Royer, C. A. (2011) Structural plasticity of staphylococcal nuclease probed by perturbation with pressure and pH. *Proteins*, **79**, 1293-1305.
- [4] Baxter, N. J., Hosszu, L. L. P., Waltho, J. P., Williamson, M. P. (1998) Characterization of low free-energy exited states of folded proteins. *J. Mol. Biol.* **284**, 1625-1639.
- [5] Kumar, A., Srivastava, S., and Hosur R. V. (2007) NMR characterization of the energy landscape of SUMO-1 in the native-state ensemble. *J. Mol. Biol.* **367**, 1480-1493.
- [6] <http://www.cdc.gov/lyme/>
- [7] Kitahara, R., Simorellis, A. K., Hata, K., Maeno, A., Yokoyama, S., Koide, S., and Akasaka, K. (2012) A delicate interplay of structure, dynamics, and thermodynamics for function: A high pressure NMR study of outer surface protein A. *Biophysical J.* **102**, 916-926.
- [8] Kitahara, R. and Akasaka, K. (2003) Close identity of a pressure-stabilized intermediate with a kinetic intermediate in protein folding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 3167-3172.
- [9] Kitahara, R., Yokoyama, S., and Akasaka, K. (2005) NMR snapshots of a fluctuating protein structure: Ubiquitin at 30 bar-3 kbar. *J. Mol. Biol.* **347**, 277-285.
- [10] Wilton, D. J., Kitahara, R., Akasaka, K. Pandya, M. J., and Williamson, M. P. (2009) Pressure-dependent structural changes in barnase on ligand binding reveal intermediate rate fluctuations. *Biophys. J.* **97**, 1482-1490.
- [11] DAEDALUS INNOVATIONS <http://www.daedalusinnovations.com/>

トピックス

FG-FMAS 固体NMR測定による
加硫天然ゴムのキャラクタリゼーション

長岡技術科学大学

河原 成元

1. はじめに

磁場勾配高速マジック角回転 (FG-FMAS) プローブは、分子運動が比較的活発なゴムやゲル等のソフトマテリアルの末端基、分岐点および架橋点等を精緻に解析するために開発された固体NMR測定用プローブである^[1]。このプローブは、重溶媒で試料を希釈することなく、高速マジック角回転により双極子-双極子相互作用の効果を消去し、磁場勾配によりコヒーレンス測定が可能となることから、学界および産業界において幅広い応用展開が期待されている。とりわけ、FG-FMASプローブは、液体でもなく固体でもないソフトマテリアルに関して、同種核相関や異種核相関等の2次元NMR測定を可能にしたことから、NMRにおける新分野を切り開いた革新的技術として注目を集めている。

磁場勾配マジック核回転プローブを使用した

NMR測定は、2002年頃から報告されている^[1]。10kHz以下の回転速度で試料管をマジック角回転させながら、パルス磁場勾配測定により分子の拡散が測定され、拡散係数が見積もられてきた^[2-6]。しかしながら、この方法ではマジック角回転が十分であるとは言えず、同種核相関および異種核相関を測定することは困難であった。

加硫ゴムの架橋点の構造を解析するためには、微小なシグナルを分離し、同種核相関および異種核相関を測定する必要がある。これらの相関は、NMRスペクトルの分解能を高くし、全てのシグナルを完全に分離することにより実測できるようになる。このような条件を分子運動が比較的活発な加硫ゴム^[7,8]で満たすためには、シグナルの広幅化の原因である双極子-双極子相互作用の効果を消去すればよい。理論的には、20kHz以上のマジック

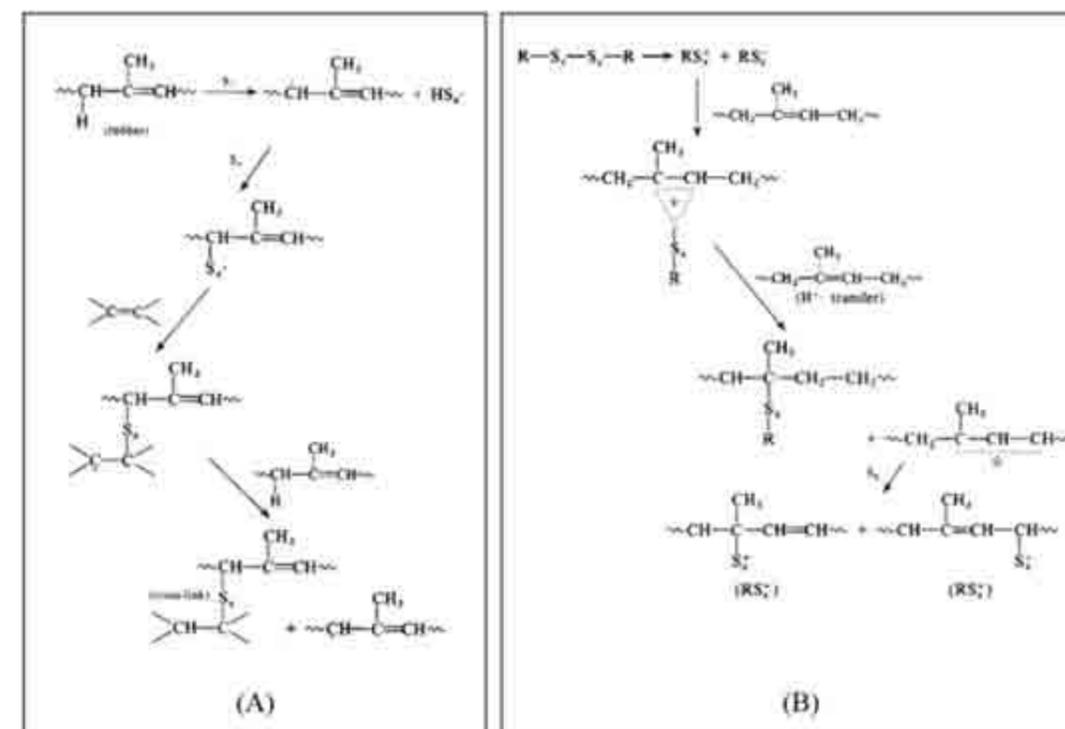


図1 Mechanism of vulcanization of natural rubber
(A) Radical reaction and (B) Ion reaction



北原 亮 (きたはら・りょう)

平成11年より日本核磁気共鳴学会会員

平成14年神戸大学大学院卒業(理学)

平成14～平成16年理化学研究所 基礎科学特別研究員

平成17～19年日本学術振興会 特別研究員(理化学研究所播磨研究所)

平成20年より立命館大学薬学部 専任講師(生体分子構造学研究室主宰)

平成23年より准教授

ク核回転 (MAS) で、NMRスペクトルの分解能は高くなることが予測されている^[9]。この高速MASは、試料管の直径を小さくし、回転における重心の振幅を小さくすることにより実現すると考えられる。実際、試料管の直径を1mm以下にすることにより、MASは80kHz以上になることが報告されている^[10]。しかしながら、試料管の直径が小さくなれば充填できるゴムの量は少なくなるため、濃度がcis-1,4-イソプレン単位の1/100程度の架橋点をNMRシグナルとして検出することは困難になる。この二律背反の問題を解決するためには、20kHz以上の高速MASと最大量の試料充填を両立できるように、試料管の直径を最適化する必要がある。また、分極移動、一量子または多量子コヒーレンス測定および磁場勾配測定ができるようなプローブを開発すれば、NMR測定の感度をさら

に上げることが可能となる^[11]。このような背景のもとで開発されたのが、FG-FMASプローブである。プローブの構成は高速MASおよび磁場勾配を印加できるようになっている。また、最良のシム条件に調整し、分解能をよくするため、ロックがかけられるようになっている。

本トピックスでは、FG-FMASプローブを用いた固体NMR測定による加硫天然ゴムの架橋点の構造解析により得られた成果の一部^[1,12]を紹介する。

2. 加硫ゴムの架橋点の構造解析に関する

過去の研究成果

加硫天然ゴムの架橋点の構造はCoranが提案した加硫反応機構^[13]に基づいて固体¹³C-NMRスペクトルのシグナル^[14~18]を帰属することにより解析されている^[19~23]。図1にCoranにより提案された天

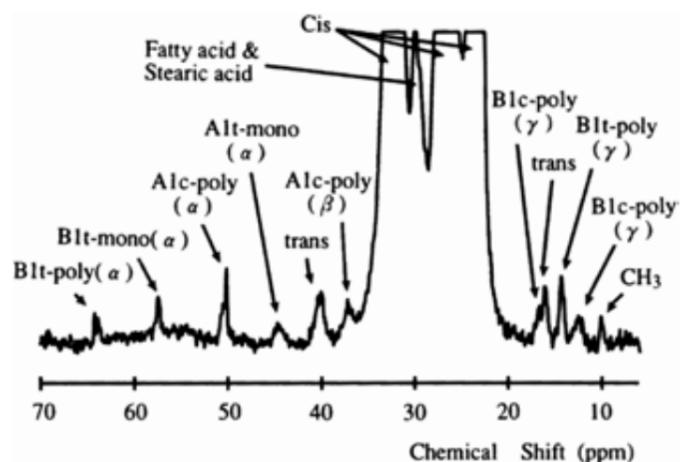


図2 ¹³C-NMR spectrum for vulcanized natural rubber, obtained by high resolution solid-state ¹³C-NMR spectroscopy performed under magic angle spinning and high power decoupling.

NMR化学シフト計算

Polysulfide ⇌ Base Shift + 25.2ppm
 AIt-poly : 26.4 + 25.2 = 51.8ppm
 BIt-poly : 39.7 + 25.2 = 64.9ppm
 Monosulfide ⇌ Base Shift + 17.9ppm
 AIt-mono : 26.4 + 17.9 = 44.3ppm
 BIt-mono : 39.7 + 17.9 = 57.6ppm

化学シフト帰属

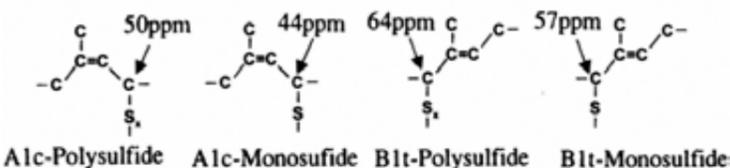


図3 Estimated values of chemical shift for typical crosslinking junctions of vulcanized natural rubber

然ゴムの加硫反応機構を示す。加硫にはラジカル機構とイオン機構があり、ラジカル機構では硫黄に結合した3級炭素が生成し、イオン機構では3級炭素および4級炭素が生成すると推定された。

Koenigら^[14]は固体¹³C-NMR法を加硫天然ゴムに適用し、未加硫天然ゴムのスペクトルにはないシグナルが加硫後に現れていることを発見した。図2にKoenigらが報告した加硫天然ゴムの架橋点と思われるシグナルを示す。Koenigらは図1に示す加硫反応機構に基づいて架橋点の構造は主に3級炭素であると推定し、図3に示す化学シフトの推定計算値を算出した。この推定計算値が実測により得られたシグナルの化学シフトの値とほぼ同じであったため、図2に示されるシグナルを硫黄に結合した3級炭素であると結論付けた^[21]。

しかしながら、図1に示されるラジカル機構だけを考えても、硫黄ラジカルによる水素引抜は複雑であり、図1に示すように単純に反応が進行するだけではない。例えば、天然ゴムのアリル位の水素が引き抜かれることにより生成したラジカルは、図4に示すように共鳴するため、硫黄ラジカルと再結

合することにより生成する架橋点の構造は複雑になると考えられる。例えば、図4に示すラジカルと硫黄が結合しただけでも図5に示す架橋点が生じると考えられる。したがって、加硫天然ゴムの架橋点の構造を解析するためには実証的方法を確立することが望まれる。

4.1 次元 NMR 測定^[1,12]

図6に加硫天然ゴムの固体¹³C-NMRスペクトルと未加硫天然ゴムの溶液¹³C-NMRスペクトルを示す。ここで、固体¹³C-NMR測定では、高速MASおよびゴムに不活な重水を用いた内部ロックが適用されている。¹³C-NMRスペクトルに示された5本のシグナルは図中のcis-1,4-イソプレン単位のC1からC5にそれぞれ帰属される。これらのシグナルの中で、24.3ppmのC5シグナルの半値幅とS/N比の値を表1に示す。加硫天然ゴムの固体¹³C-NMRスペクトルの半値幅とS/N比の値は溶液¹³C-NMRスペクトルの半値幅とS/N比の値とほぼ同じであった。20kHz以上という高速MASにより、異種核間の双極子-双極子相互作用の効果が無視し得るほど

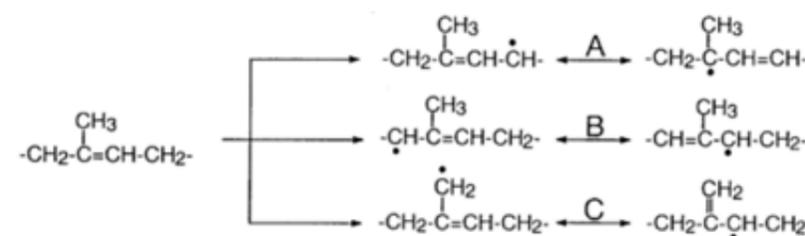


図4 Conjugation of allylic radicals of cis-1,4-isoprene units

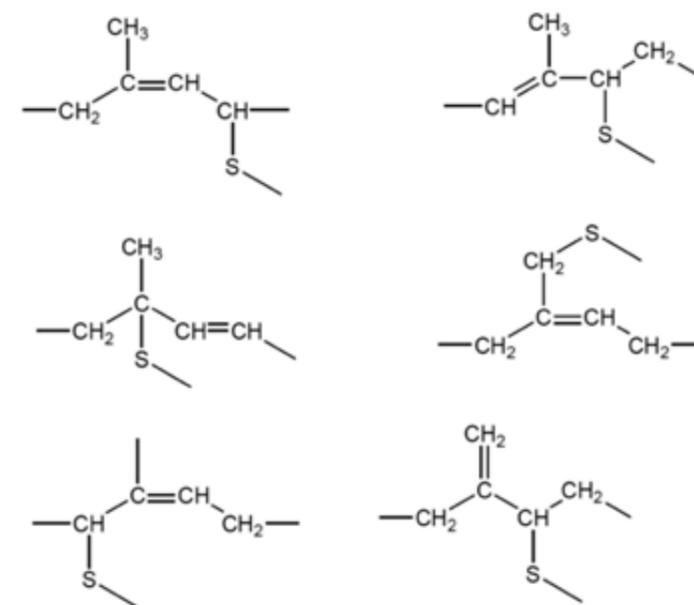


図5 Plausible structures of crosslinking junctions of vulcanized natural rubber

小さくなり、高出力 ^1H デカップリングを用いなくとも固体 ^{13}C -NMRスペクトルの分解能が高くなったと考えられる。Kluppelら^[24]は、加硫天然ゴムの固体 ^{13}C -NMR測定において、MASが3kHzのときにシグナルがブロードとなり、C5、C4、C1のシグナルが互いに重なり合うことを報告した。また、Koenigらは、加硫天然ゴムの固体 ^{13}C -NMR測定を行う際、高分解能スペクトルを得るために、常に高出力 ^1H デカップリングを適用した^[14~23]。これらは、過去の研究におけるMASの速度が不十分であったため、異種核間の双極子-双極子相互作用を効果的に消去できなかったことを示している。このような過去の ^{13}C -NMRスペクトルとは異なり、高速MASを行うだけで、加硫天然ゴムについて図6に示すような高分解能固体 ^{13}C -NMRスペクトルが得られたことから、ゴムの構造解析は新たな段階に進展したといえる。

図6の加硫天然ゴムの固体 ^{13}C -NMRスペクトルを拡大すると、40~60ppm付近に複数の小さなシグナルを確認することができる。これらは未加硫天然ゴムの溶液 ^{13}C -NMRスペクトルには観測されていないことから、架橋点に由来するシグナルであるといえる。過去の研究では、40、44、50、58ppmにそれぞれブロードな1本のシグナルが示され、それらは各々1本のシグナルとして帰属

および解析に用いられた^[14~23, 25~29]。しかしながら、FG-FMASプローブを使用し、高速MASおよび重水素ロックを行うことにより、40、44、50、58ppmにそれぞれ複数の鋭いシグナルが示され、ブロードなシグナルはもはやどこにも確認できなくなっていた。高速MASに加え、内部ロックによりシム調整が正確に行われたことが、シグナルの分離に重要な役割を果たしたと考えられる。これにより、過去に報告されたブロードな1本のシグナルは、複数の小さなシグナルが重なり、見かけ上1本となって ^{13}C -NMRスペクトルに示されていたことが明らかとなった。

図7に加硫天然ゴムの固体 ^1H -NMRスペクトルと未加硫天然ゴムの溶液 ^1H -NMRスペクトルを示す。 ^1H -NMRスペクトルにおける1.7、2.1および5.1ppmの大きなシグナルは図中のcis-1,4イソプレレン単位のメチル基、メチレン基および不飽和メチン基の ^1H に帰属される。これらのシグナルの中で1.7ppmのメチル基のシグナルの半値幅とS/N比を表2に示す。未加硫天然ゴムの溶液 ^1H -NMRスペクトルと比較して、加硫天然ゴムの固体 ^1H -NMRスペクトルのS/N比の値は低く、半値幅の値は増大していた。しかしながら、加硫天然ゴムの固体 ^1H -NMRスペクトルと未加硫天然ゴムの溶液 ^1H -NMRスペクトルの差異はわずかであり、FG-

FMASプローブを使用し、高速MASおよび重水素ロックを行うことにより、固体においても高分解能 ^1H -NMRスペクトルが得られることが証明された^[1, 30]。すなわち、高速MASにより同種核間の双極子-双極子相互作用の効果を極めて小さくし、重水素ロックにより正確にシム調整できることが明らかとなった。

図7では、加硫天然ゴムの固体 ^1H -NMRスペクトルに、小さなシグナルが3.4および4.2ppmに示されていることがわかる。3.4ppmのシグナルは-C-CH-Sxの ^1H に帰属され、4.2ppmのシグナルは=C-CH-Sxの ^1H に帰属される^[1]。ここで、xは架橋点における硫黄の数を表している。このように、高速MASを行うことにより、 ^1H -NMR測定でも架橋点に由来するシグナルが解析できるようになった。

表1 Summary of relevant parameters for the spectra shown in Figure 1

Figure	6A	6B
Sample	Vulcanized NR	Unvulcanized NR
T(K)	323	323
No. of transients	90,000	90,000
Rec delay (s)	2.0	2.0
S/N	4,882	5,295
Half width (Hz)	17.05	11.47
Time (h)	76.5	76.5

以上のように、FG-FMASプローブを使用することにより、架橋点に由来する ^{13}C -NMRスペクトルと ^1H -NMRスペクトルを高分解能で得ることができるようになり、シグナルを実証的に帰属するための準備は整った。

5. DEPT 測定

^{13}C -NMRスペクトルの40~60ppm付近の小さなシグナルは、各炭素の置換基の数を決めることにより、帰属できると考えられる。炭素の置換基の数は、 ^1H と ^{13}C の相互作用を利用したDistorsionless Enhancement by Polarization Transfer (DEPT) およびAttached Proton Test (APT) のパルスシーケンスを適用することにより測定できる。表3にDEPTおよびAPTにおけるシグナルの出現方向と置換基の数との関係を示す。シグナルの出現方向によ

表2 Summary of relevant parameters for the spectra shown in Figure 3

Figure	7A	7B
Sample	Vulcanized NR	Unvulcanized NR
T(K)	323	323
No. of transients	128	128
Rec delay (s)	5.0	4.2
S/N	26,732	27,178
Half width (Hz)	7.00	5.20
Time (min)	13	13

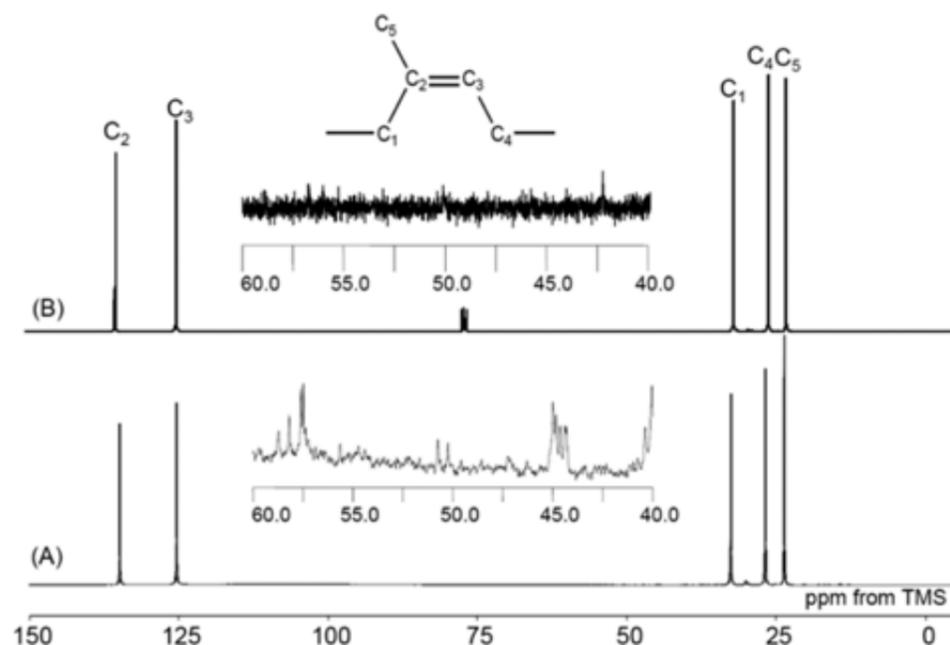


図6 Typical ^{13}C -NMR spectra: (A) solid-state ^{13}C -NMR spectrum for the vulcanized natural rubber, (B) solution-state ^{13}C -NMR spectrum for unvulcanized natural rubber. The solid-state ^{13}C -NMR measurement was performed with a 4mm FGMAS probe at 18kHz in spinning rate. The solution state ^{13}C -NMR measurement was performed with a NM-40TH5AT/FG2SL probe at 12Hz in spinning rate.

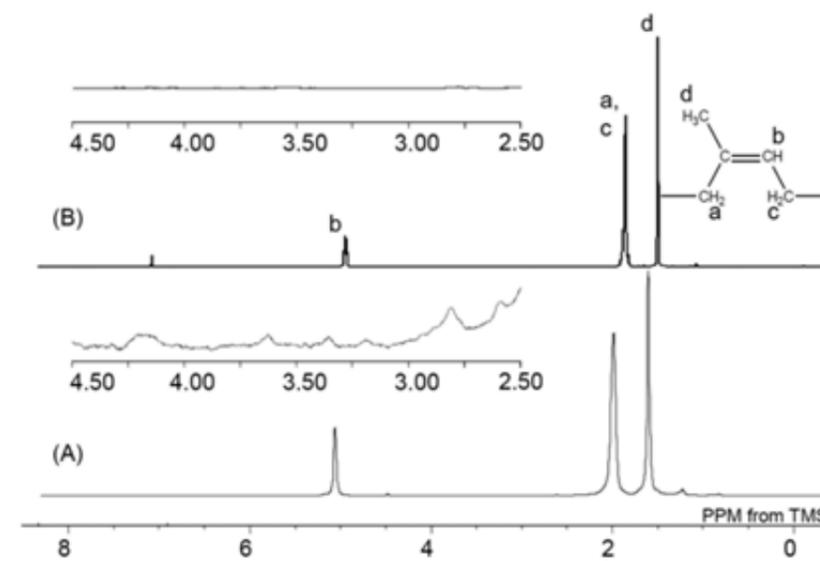


図7 Typical ^1H -NMR spectra: (A) solid-state ^1H -NMR spectrum for the vulcanized natural rubber, (B) solution-state ^1H -NMR spectrum for the unvulcanized natural rubber. The solid-state ^1H -NMR measurement was performed with a 4mm FGMAS probe at 18 kHz in spinning rate. The solution state ^1H -NMR measurement was performed with a NM-40TH5AT/FG2SL probe at 12Hz in spinning rate.

り、1級、2級、3級および4級炭素を区別することができる。

図8に加硫天然ゴムのDEPT45、DEPT90、DEPT135およびAPTスペクトルを示す。ここで、APTスペクトルにはシグナルに矢印を付している。24、26、32 ppmのシグナルはDEPT45スペクトルでは上向き、上向き、上向きに現れ、DEPT90スペクトルでは消失している。また、これらのシグナルは、DEPT135スペクトルでは、上向き、下向き、下向きに現れている。これらを表3に基づいて帰属すると、24 ppmのシグナルはcis-1, 4-イソプレン単位のメチレン基、26および32 ppmのシグナルはメチレン基であることが確認できる。同様に、 ^{13}C -NMRスペクトルの40~60 ppm付近の小さなシグナルの帰属を行う。40および44 ppmの小さなシグナルは、DEPT45スペクトルでは上向き、DEPT90スペクトルでは消失、DEPT135スペクトルでは下向きに現れている。一方、58 ppmのシグナルはDEPT45、DEPT90、DEPT135スペクトルではすべて上向きまたは消失している。これにより、40および44 ppmのシグナルは2級炭素に帰属され、58 ppmのシグナルは3級炭素と4級炭素に帰属される。この帰属を確認するために、APTスペクトルに目を移すと、40および44 ppmのシグナルはどちらも下向きに現れ、58 ppmのシグナルは上向きおよび下向きに現れている。これらを表3に基づいて帰属すると、40および44 ppmのシグナル

は2級炭素、58 ppmのシグナルは3級炭素と4級炭素に帰属され、DEPTにより得られた結果と一致する。以上により、40および44 ppmのシグナルは2級炭素に帰属され、58 ppmのシグナルは3級炭素と4級炭素に帰属されることが明らかとなった。FG-FMASプローブを用いることにより全てのシグナルは分離されるようになり、Koenig^[14~23]やGronski^[25, 26]の報告とは異なり、40~60 ppm付近のシグナルを実証的に帰属できるようになった。

6. 二次元 NMR 測定

図9にFG-FMAS固体NMR法により得られた加硫天然ゴムのHeteronuclear Multi Quantum Correlation (HMQC) スペクトルを示す。ここで、 t_1 ノイズは選択測定を行うことにより消去されている。磁場勾配を印加しながら多量子コヒーレンス測定を行うことにより、微弱な40、44および58 ppmの ^{13}C -シグナルと2.1、1.7、3.4および4.2 ppmの ^1H -シグナルとの間に明瞭に相関ピークが観測された。ここで、1.7および2.1 ppmの ^1H シグナルはCとHから成る置換基に帰属され、3.4 ppmの ^1H シグナルは-C-CH-SxのH、4.2 ppmの ^1H シグナルは=C-CH-SxのHに帰属される。図9の異種核相関から、40および44 ppmの ^{13}C シグナルは2.1および1.7 ppmの ^1H シグナルと相関があったためCとHから成る置換基に結合した2級炭素に、58 ppmの ^{13}C シグナルは-C-CH-Sxと=C-CH-Sxの3級炭素

にそれぞれ帰属される。また、58 ppmの ^{13}C シグナルの一部は、硫黄に結合した4級炭素に帰属される(図4)。これまでの研究で、Koenigら^[21, 22]は、40 ppmのシグナルを異性化により生じたtrans-1,4-イソプレン単位のメチレン基に帰属したが、44、58 ppmのシグナルを硫黄に結合した3級炭素に帰属した。一方、Gronskiら^[25, 26]は、44 ppmのシグナルを硫黄に結合した2級炭素と3級炭素であり、58 ppmのシグナルを硫黄に結合した3級炭素と4級炭素に帰属した。これに対し、FG-FMAS固体NMR法を適用することにより、40、44および58 ppmの ^{13}C -シグナルを実証的に帰属することができた。40 ppmのシグナルは異性化により生じたtrans-1,4-イソプレン単位のメチレン基に帰属され、44 ppmのシグナルは硫黄に結合した炭素の隣のメチレン基に帰属された。また、58 ppmのシグナルはSに結合した3級および4級炭素に帰属された。

7. おわりに

FG-FMASプローブの開発により、ゴムやゲルのように比較的分子運動が活発なソフトマテリアルについて、HSQC、HMQCおよびHMBC等の測定が可能になった。これは、従来のNMR法が溶液や固体に限られていたことを考慮すると、画期的な技術革新であるといえる。なぜなら、ゴムやゲルの構造解析は、溶液NMR法や固体NMR法を適用せざるを得なかったため、汎用高分子、機能性高分子、タンパク質や糖鎖等の構造解析に比べ、圧倒的に遅れていたからである。今後、FG-FMAS固体NMR法が普及し、これまでの研究で未知とされてきた末端基、分岐点および架橋点と物性との関係が完全に解明されることを期待する。

表3 Appearance of signals in DEPT and APT spectra

	Primary C	Secondary C	Tertiary C	Quaternary C
DEPT45	↑	↑	↑	—
DEPT90	—	—	↑	—
DEPT135	↑	↓	↑	—
APT	↑	↓	↑	↓

↑ : Upward signal ↓ : Downward signal — : Null

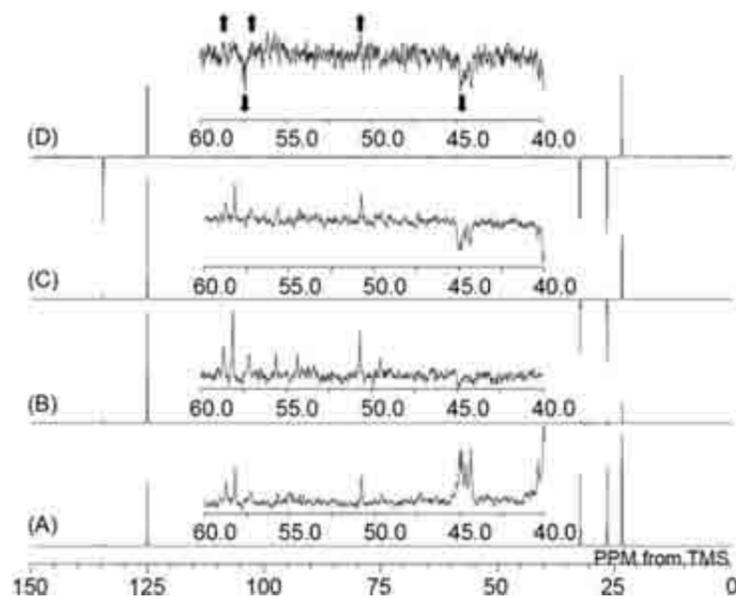


図8 Solid-state ^{13}C -NMR spectra with pulse sequences of distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT) and attached proton test for the vulcanized natural rubber: (A) DEPT45, (B) DEPT90, (C) DEPT135, (D) APT.

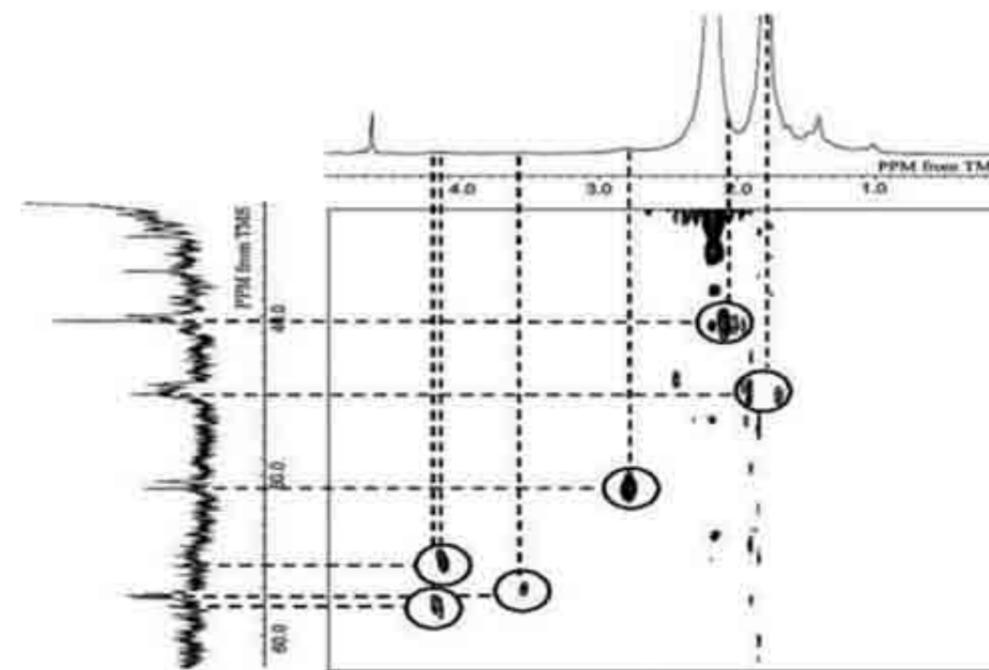


図9 HMQC spectra for the vulcanized natural rubber, obtained through solid-state NMR spectroscopy equipped with a 4mm FGMAS probe at 18 kHz in spinning rate for 71.5 h. HMQC measurement was performed in a selective region of chemical shift: 2-4 ppm in ^1H domain and 35-70 ppm in ^{13}C domain.

参考文献

- [1] Kawahara, S., Chaikumpollert, O., Sakurai, S., Yamamoto, Y., and Akabori, K., (2009) Crosslinking junctions of vulcanized natural rubber analyzed by solid-state NMR spectroscopy equipped with field-gradient-magic angle spinning probe. *Polymer*, **50**, 1626-1631.
- [2] Pampel, A., Michel, D., and Reszka, R., (2002) Pulsed field gradient MAS NMR studies of the mobility of carboplatin in cubic liquid-crystalline phases. *Chem. Phys. Lett.*, **357**, 131-136.
- [3] Gaede, H. C., and Gawrisch, K., (2003) Lateral diffusion rates of lipid, water, and a hydrophobic drug in a multilamellar liposome. *Magn. Reson. Imag.*, **85**, 1734-1740.
- [4] Li T., and Mirowitz S. A., (2003) Manifestation of magic angle phenomenon: comparative study on effects of varying echo time and tendon orientation among various MR sequences. *Magn. Reson. Imag.*, **21**, 741-744.
- [5] Gaede H. C., and Gawrisch K., (2004) Multi-dimensional pulsed field gradient magic angle spinning NMR experiments on membranes. *Magn. Reson. Chem.*, **42**, 115-122.
- [6] Baltisberger J. H., Hediger, S., and Emsley, L., (2005) Multi-dimensional magnetic resonance imaging in a stray magnetic field. *J. Magn. Reson.*, **172**, 79-84.
- [7] Komoroski, R. A., (1983) Magic angle spinning carbon-13 NMR studies of filled vulcanizates. *Rubber Chem. Technol.*, **56**, 959-970.
- [8] Komoroski, R. A., Schockcor, J. P., Gregg, E. C., and Savoca, J. L., (1986) Characterization of Elastomers and Rubber Chemicals by Modern NMR Techniques. *Rubber Chem. Technol.*, **59**, 328-346.
- [9] Oyler, N. A., and Tycko, R., (2002) Multiple quantum C-13 NMR spectroscopy in solids under high-speed magic-angle spinning. *J. Phys. Chem., B*, **106**, 8382-8389.
- [10] Nishiyama, Y., Endo, Y., Nemoto, T., Utsumi H., Yamauchi K., Hioka K., and Asakura T., (2011) Very fast magic angle spinning H-1-N-14 2D solid-state NMR: Sub-micro-liter sample data collection in a few minutes. *J. Magn. Reson.*, **208**, 44-48.
- [11] Braun, S., and Kalinowski, H. O., and Berger, S., (1998) 150 and More Basic NMR Experiments: A Practical Course, 2nd Ed. pp 1-581, Wiley-VCH, Weinheim,
- [12] Chaikumpollert, O., Yamamoto, Y., Suchiva, K., and Kawahara, S., (2012) Mechanical Properties and Cross-Linking Structure of Cross-Linked Natural Rubber. *Polym. J.*, **44**, 772-777.
- [13] Coran, A. Y., Vulcanization. In Mark, J. E., Erman, B., and Eirich, F. R., Eds., (1994) Science and Technology of Rubber, 2nd Ed. Chapter 7, pp. 339-385, Academic Press, San Diego,.
- [14] Patterson, D. J., Köenigh, J. L., and Shelton, J. R., (1983) Vulcanization Studies of Elastomers Using Solid-State Carbon-13 NMR. *Rubber Chem. Technol.*, **56**, 971-994.
- [15] Patterson, D. J., and Köenigh, J. L., (1987) Solid-state ¹³C NMR characterization of irradiation-crosslinked natural rubber. *Appl. Spectrosc.*, **41**, 441-446.
- [16] Zaper, A. M., and Köenig, J. L., (1987) Solid State Carbon-13 NMR Studies of Vulcanized Elastomers. II, Sulfur Vulcanization of Natural Rubber. *Rubber Chem. Technol.*, **60**, 252-277.
- [17] Köenig, J. L., and Patterson, D. J., (1987) Application of Solid State ¹³C NMR Spectroscopy to Sulfur Vulcanized Natural Rubber: I. *The Method. Elastomers Rubber Technol.*, **32**, 31-53.
- [18] Zaper, A. M., and Köenig, J. L., (1988) Solid-state ¹³C NMR studies of vulcanized elastomers, 4. Sulfur-vulcanized polybutadiene. *Macromol. Chem.*, **189**, 1239-1251.
- [19] Mori, M., and Köenigh, J. L., (1995) Solid-State C-13 NMR Studies of Vulcanized Elastomers XIII. TBBS Accelerated, Sulfur-Vulcanization of Carbon Black Filled Natural Rubber. *Rubber Chem. Technol.*, **68**, 551-562.
- [20] Mori, M., and Köenigh, J. L., (1997) Solid-State C-13 NMR Studies of Vulcanized Elastomers XVII. Effect of Carbon Black Grade on the Network Structure in Natural Rubber Vulcanizates. *Rubber Chem. Technol.*, **70**, 671-680.
- [21] Mori, M., and Köenigh, J. L., (1998) Solid-state ¹³C-NMR and equilibrium-swelling studies of filled, TBBS-accelerated sulfur vulcanization of natural rubber. *J. Appl. Polym. Sci.*, **70**, 1391-1399.
- [22] 森麻樹夫, Köenigh, J. L., (1998) 高分解能NMRによるゴム加硫物の分析 高分解能NMRによるゴム加硫物の分析. 日本ゴム協会誌, **71**, 68-77.
- [23] Oh, S. J., and Köenig, J. L., (1999) Proton spin-spin relaxation and n.m.r. imaging of peroxide/coagulant crosslinked cis-1,4-polyisoprene. *Polymer*, **40**, 4703-4708.
- [24] Klüppel, M., Menge, H., Schmidt, H., Schneider, H., and Shuster, R. H., (2001) Influence of preparation conditions on network parameters of sulfur-cured natural rubber. *Macromolecules*, **34**, 8107-8116.
- [25] Gronski, W., Hoffmann, U., Simon, G., Wutzler, A., and Straube, E. R., (1992) Structure and Density of Crosslinks in Natural-Rubber Vulcanizates. A Combined Analysis by NMR Spectroscopy, Mechanical Measurements, and Rubber-Elastic Theory. *Rubber Chem. Technol.*, **65**, 63-77.
- [26] Gronski, W., Hasenhindl, H., Freund, H. H., and Wesseling, A. W., (1991) High resolution solid state ¹³C NMR studies of the crosslink structure in accelerated sulfur vulcanized natural rubber. *Kautsch. Gummi Kunstst.*, **44**, 119-123.
- [27] 宇川仁太, 酒井潤一郎, 河原成元, 五十野善信, 大原利一郎, (2005) ラテックス¹³C-NMR法による加硫天然ゴムの構造解析. 日本ゴム協会誌, **78**, 331-404.
- [28] Ukawa, J., Kawahara, S., and Sakai, J., (2007) Structural Characterization of Vulcanized Natural Rubber by Latex State ¹³C NMR Spectroscopy. *J. Polym. Sci. Part B, Polym. Phys.*, **45**, 1003-1009.
- [29] 宇川仁太, 河原成元, (2006) ラテックス¹³C-NMR法による加硫天然ゴムの構造解析. 日本ゴム協会誌, **79**, 562-566.
- [30] Kawahara, S., Akabori, K., Yamamoto, Y., and Sakurai, S., (2009) Crosslinking Junctions of Vulcanized Natural Rubber Analyzed by Solid and Latex-State NMR Spectroscopy. *Kautsch. Gummi Kunstst*, **62**, 94-97.



河原 成元 (かわはら・なりもと)

1988年 東京農工大学工学部卒業

1992年 東京農工大学大学院工学研究科博士後期課程 修了

1992年 東京農工大学助手

1996年～1997年 The University of Akron 訪問研究員

1998年 長岡技術科学大学助教授

2007年 長岡技術科学大学准教授 現在に至る

2012年 日本核磁気共鳴学会会員

第50回NMR討論会若手ポスター賞について

以下、応募から審査の経緯について、詳しく報告いたします。

厳密、かつ、公正に審査が行われていることを知っていただけたらと思います。

尚、今回は、第50回NMR討論会 記念国際シンポジウムでした。そのため講演者が多かったため、若手ポスター賞の審査にあたって口頭発表は行いませんでした。

本若手ポスター賞の募集は、例年通り、ホームページ上で行われました。

討論会前日の時点で35歳以下、NMR学会の会員、過去に若手ポスター賞を受賞していない、応募者は1研究室あたり2名以下 という条件の下で、募集しました。

応募者は、当初、24名おりました。

その後、1名が辞退、また、3名については、学会の会員であることが条件でしたので、入会の督促をしましたが、指定日までに手続きがなされませんでしたので、除外いたしました。最終的に、若手ポスター賞対象者は、20名となりました。

研究内容を検討して溶液部門と固体&その他の部門の二つに、審査の部門を分けた結果、若手ポスター賞対象者は、溶液関係の部門で9名、固体&その他の部門で11名となりました。

この時点で、例年通り、NMR学会の評議員に連絡して、この2部門で選考していただくこととしました。評議委員の先生方の専門を考慮して担当の審査部門の依頼を考えたのですが、固体&その他の部門の先生方の数が少ないこともあって、数名は、溶液部門から固体&その他の部門にまわっていただきました。

審査は、要旨とポスター発表(ポスターの完成度も含む)の2項目について、それぞれ5点満点、合計10点満点で採点していただきました。

尚、その際の評価は、

(1) 高いオリジナリティーを有する学術的研究である。

(2) 議論や展開が優れており、発表もわかりやすく、質問にも的確に答えている。

としました。

採点時、点数は正の整数とし、各項目に対して、全部3点というのではなく、1~5までの数字を使い、例えば、1点と5点:1名ずつ 2点と4点:2名ずつ 3点:3~5名といった分布を、おおよその目安として、採点をお願いしました。

点数の高い順に、溶液関係と固体&その他の部門で選考し、合計5名を選出しました。

尚、採点者は、自身の研究室や共同研究の応募者については採点しませんので、採点者の母数が異なります。そこで、母数で割った点数で比較しました。

その結果、以下の5名が選ばれ、懇親会の時に、賞状と副賞として1万円が学会長から手渡されました。

京都大学の古川亜矢子さん、名古屋市立大学の山本さよこさん、北海道大学の田巻初さん、京都大学の野田泰斗さん、横浜国立大学の友永雄也さんが選ばれました。受賞者の第50回NMR討論会要旨を本学会機関誌にも掲載いたします。

是非、これからもNMR関係の仕事について活躍して欲しいと思いながら、懇親会の時の一言を聞いていました。

若手ポスター賞担当理事
竹腰清乃理 朝倉哲郎

若手ポスター賞受賞講演

Real-time monitoring of the cytidine deamination along single-stranded DNA by an anti-HIV factor, APOBEC3G

¹Inst. of Adv. Energy, Kyoto Univ., ²Bioorg. Res. Inst., Suntory Found. Life Sci., ³CellFree Sci., ⁴Grad. Sch. Med., Yokohama City Univ., and ⁵Grad. Sch. Med., Kyoto. Univ.

Ayako Furukawa¹, Kenji Sugase², Ryo Morishita³, Takashi Nagata¹, Akihide Ryo⁴, Akifumi Takaori⁵ and Masato Katahira¹

Introduction

Human APOBEC3G (A3G), an anti-HIV-1 host factor, deaminates cytidine in the minus-strand of the HIV DNA so that the HIV replication can ultimately be inhibited. A3G preferentially deaminates the third cytidine of a CCC hotspot sequence in a single-strand DNA (ssDNA). Although A3G is a potential target for HIV therapy, the mechanism of the deamination reaction is still poorly understood. In this study, we monitored the cytidine deamination reaction using real-time NMR, and fitted the data to newly constructed kinetic models in order to obtain insight into the mechanism of A3G deamination reaction.

Results and Discussions

A3G has two cytidine deaminase domains, but only the C-terminal domain (A3G-C: residues 193-384) is involved in the catalytic activity. Previous biochemical studies showed that full-length A3G has 3' → 5' deamination polarity but A3G-C has no polarity preference. Firstly, we have quantitatively analyzed the deamination activity and polarity of

A3G and A3G-C using real-time NMR that we developed. Multiple TOCSY spectra were continuously acquired to monitor the conversion from cytidine to uridine on a ssDNA containing two CCC hotspots. After the addition of A3G, uridine peak appears as cytidine peak disappears (Fig. 1). We chased the intensity changes of the cytidine peaks in real time. To our surprise, real-time NMR revealed that A3G-C deaminates cytidine with a strong 3' → 5' polarity and the reaction rate of A3G-C is comparable to that of A3G. Therefore, we concluded that A3G-C is the determinant for the deamination polarity and rate, and thus we used only A3G-C in all the subsequent experiments.

In order to further obtain the details of the 3' → 5' polarity of the deamination reaction by A3G-C, we measured the deamination rates of three CCC hotspots, each of which was contained separately in a ssDNA with the same length but the position was different: near 5' end, in the center and near 3' end. As shown by Fig. 2, the order of the deamination rates was near 5' end > in the center > near 3' end. Namely, CCC hotspots in the

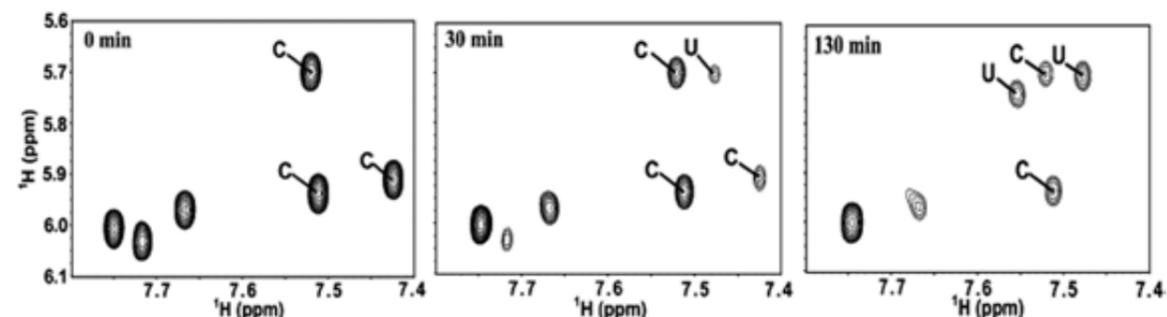


Fig. 1 Real-time monitoring of the conversion from cytidine to uridine by A3G-C. The elapsed time after the addition of A3G-C is indicated at the top left corner of each spectrum.

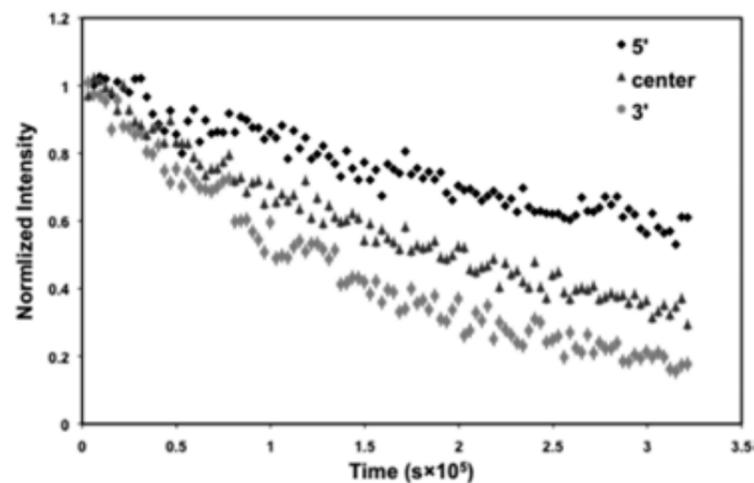


Fig. 2 Location dependence of the deamination reaction by A3G-C

upstream regions, or 5'-side regions, have higher deamination rates. Here, we hypothesized that the cytidine deamination by A3G-C is coupled to 3' → 5' sliding. The hypothesis was confirmed by an experiment using a ssDNA containing a short double-strand region in the middle of two CCC hotspots. In the experiment, the deamination rates for the two hotspots were almost the same whereas the rate was faster for the 5' side when just the ssDNA was used. The results indicate that A3G certainly slides on a ssDNA, and the sliding is precluded by the double-stranded region.

Next, we asked how A3G-C exerts the 3' → 5' deamination polarity. Here, we propose two kinetic models for the coupled deamination and sliding on a ssDNA. In Model 1, the sliding rates from 3' to 5', $k_s(3' \rightarrow 5')$, and from 5' to 3', $k_s(5' \rightarrow 3')$, are defined to be different, but the associated catalytic reaction rates were same. In Model 2, A3G sliding has no directional preference, but the deamination is direction dependent with different catalytic reaction rates, $k_{cat}(3' \rightarrow 5')$ and $k_{cat}(5' \rightarrow 3')$. In both models, we assume that A3G-C sliding is caused by Brownian motion, and A3G-C does not change its direction when sliding on a ssDNA. We derived theoretical equations for these models, and fitted the

real-time NMR data to the theoretical equations. As a result, we obtained intrinsic dissociation constant, $K_d (= k_{off}/k_{on})$, catalytic reaction rate(s), and ratio(s) of the sliding rate(s) to the dissociation rate, k_{off} . Model 2, where the direction from which A3G-C enters into the hotspot, fitted the data very well and the polarity, $k_{cat}(3' \rightarrow 5')$ was determined to be 4 times faster than $k_{cat}(5' \rightarrow 3')$. This model seems physiologically reasonable because the sliding probabilities for both directions should be equal in Brownian motion, and the difference in the catalytic rates is expected to be caused by the asymmetric structure of A3G-C. Analysis of Model 1 is currently in progress.

In this study, we have demonstrated that real-time NMR is a powerful tool to elucidate the mechanism of the cytidine deamination by A3G, which is coupled to 3' → 5' sliding. Further analysis would shed light on a future HIV therapy targeting A3G.

References

- [1] Furukawa, A., et al (2009) *EMBO J.* **28**, 440-451.

real-time NMR, sliding on ssDNA, deamination reaction

若手ポスター賞受賞講演

Application of paramagnetic NMR to analyses of conformations and dynamics of oligosaccharides

¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University

²National Institutes of Natural Sciences

³SOKENDAI

⁴Department of Chemistry, University of Gothenburg

⁵Department for NMR-Based Structural Biology, Max Planck Institute for Biophysical Chemistry

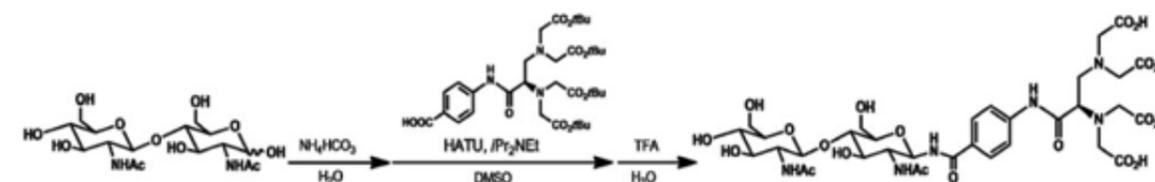
Sayoko Yamamoto^{1,2}, Takumi Yamaguchi^{2,3}, Ying Zhang^{2,3},
Máté Erdélyi⁴, Christian Griesinger⁵ and Koichi Kato^{1,2,3}

It is estimated that more than half of all proteins in nature are post-translationally modified with varying oligosaccharides. The oligosaccharides are critically involved in biomolecular recognition events mediating cell-cell communication and viral infections. In spite of their biological importance, there are still fewer reports describing 3D structures of the oligosaccharides in solution in comparison with those of proteins and nucleic acids. Although NMR spectroscopy offers powerful tools for structural analyses of biomolecules, the applicability of the widely used approach, i.e. NOE-based structural determination, is limited by insufficiency of the distance restraint information given the low proton density in carbohydrates and the exceedingly low number of proton-proton NOEs that restrain interglycosidic linkages. In addition, quantitative interpretation of the NMR data of oligosaccharides associated with their dynamic properties also remains a challenging task. Hence, development of novel NMR methods is highly desirable for characterization of the glycan structures and investigation on their conformational flexibilities.

Here we propose paramagnetic-tagging method

as a tool for NMR analyses of 3D structures of the oligosaccharides. Paramagnetic effects such as pseudocontact shifts (PCSs) induced by paramagnetic lanthanide ions with an anisotropic magnetic susceptibility tensor ($\Delta\chi$ tensor) offer long-distance information on conformations and dynamics of biomolecules. We focused on the lanthanide-induced PCSs of the CH groups of glycan to extract unique information on its glycosidic linkage conformation. An EDTA derivative was designed as the tag to chelate a lanthanide ion (see **Scheme 1**). A rigid phenylene spacer was inserted to suppress unfavorable relaxation enhancement of the carbohydrate resonances originating from the nuclei spatially proximal to the coordinated paramagnetic metal ion. The rigidity of the tag as well as the stability of the lanthanide complex are crucial factors for unambiguous interpretation of the PCS data.

To develop a general method, we focused on *N,N'*-diacetylchitobiose, the common core structure shared among all *N*-linked oligosaccharides, which form a major class of the glycoprotein glycans. The lanthanide tag was covalently attached to the reducing terminals of this disaccharide through an amide linkage that mimics the



Scheme 1 Introduction of the lanthanide-chelating unit to *N,N'*-diacetylchitobiose.

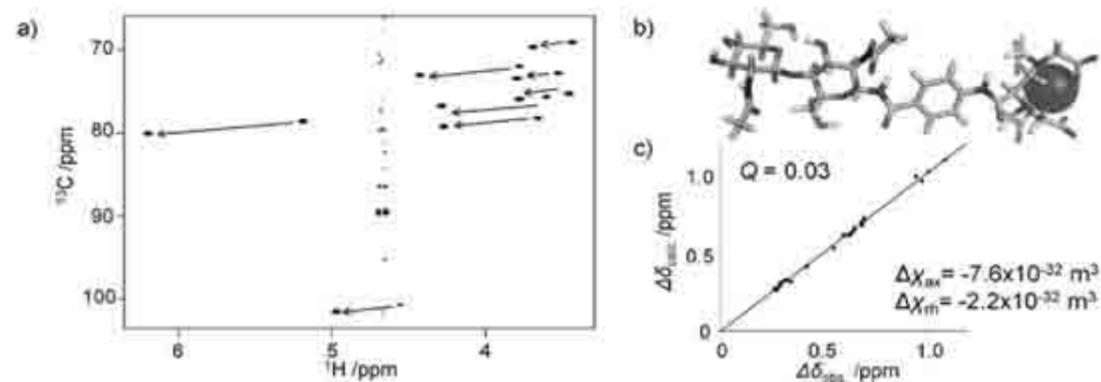


Figure 1 The analysis of PCS of the modified *N,N'*-diacetylchitobiose. a) ^1H - ^{13}C HSQC spectra of tagged disaccharide complexed with Tm^{3+} and La^{3+} . The chemical shift perturbation of the CH groups is indicated by arrows. b) The structural model of tagged disaccharide. c) The axial and rhombic components of the $\Delta\chi$ tensor ($\Delta\chi_{\text{ax}}$, $\Delta\chi_{\text{rh}}$) and correlation plot between the observed and back-calculated PCSs.

N-glycans (**Scheme 1**). The addition of up to one molar equivalent of the paramagnetic lanthanide ion such as Tm^{3+} and Ho^{3+} generated a new set of peaks originating from tagged sugar with concomitant disappearance of the original peaks. By ^1H - ^{13}C HSQC experiments, the PCSs were measured as the differences of ^1H and ^{13}C chemical shifts compared with the compound chelated to the diamagnetic La^{3+} (**Figure 1a**). The observed PCSs were largest (1.1 ppm) for C1, the anomeric carbon located at the reducing terminus, and smaller for the more distal atoms.

For conformational analysis of *N,N'*-diacetylchitobiose, molecular dynamics (MD) simulation in explicit water was performed employing AMBER 11 software package with GLYCAM_06 force field. This potentially enables adequate conformational sampling of glycosidic linkage, which has restricted numbers of energetically accessible conformations and relatively small differences in their free energies. The result of MD simulation indicated the conformational rigidity of the glycosidic linkage of this disaccharide. Accordingly, the structural model of lanthanide-tagged disaccharide was built with the torsional angles defined by H1-C1-O4'-C4' and C1-O4'-C4'-H4' of 63° and 18°

respectively (**Figure 1b**). The axial and rhombic components of the $\Delta\chi$ tensor were determined for this model by using the experimentally obtained PCSs. The back-calculated PCSs are in excellent agreement with the experimental data (**Figure 1c**). This indicates that the common innermost part of the *N*-linked oligosaccharides exhibit rigid conformations, which is little affected by the attachment of a tag. Hence, this method is applicable for a variety of *N*-linked glycans including those with more flexible conformations.

On the basis of these results, we conclude that the paramagnetic NMR approach in conjunction with MD simulation can provide valuable information on conformations and dynamics of oligosaccharides. It opens the door to conformational studies various carbohydrate chains of biological interest.

Reference

- [1] S. Yamamoto, T. Yamaguchi, M. Erdélyi, C. Griesinger and K. Kato *Chem. Eur. J.*, **17**, 9280-9282 (2011)

oligosaccharide, pseudocontact shift, lanthanide

若手ポスター賞受賞講演

Three Dimensional Solid-state NMR study of 7TM-Halorhodopsin

¹Graduate School of Life Science, Hokkaido University and
²Institute for Protein Research, Osaka University

Hajime Tamaki¹, Marika Higuchi¹, Ayako Egawa², Masakatsu Kamiya¹, Takashi Kikukawa¹, Tomoyasu Aizawa¹, Keiichi Kawano¹, Toshimichi Fujiwara², Makoto Demura¹

ABSTRACT

Halorhodopsin (HR) is a seven-transmembrane (7TM) protein and acts as a light-driven chloride pump in the lipid membrane environment. The purpose of this study is to characterize the structure and dynamics of HR in the lipid environment by solid-state NMR. We report high-resolution 3D spectra for sequential assignment. They are fundamental results of structural and dynamic analysis of HR using solid-state NMR.

Introduction

While membrane proteins constitute approximately a third of all proteins, their high resolution structures are significantly underrepresented in PDB, with only about 200 unique structures known to date. Structural studies of membrane proteins are particularly important because more than half of membrane proteins are drug targets. In recent years, there have been intense efforts to apply structural biology tools, such as X-ray crystallography, electron microscopy, and solution NMR, to membrane proteins, yet it is fair to say that there are still no universal methodologies for preparation of crystals of good quality for X-ray and electron microscopy studies, nor solubilization conditions for solution NMR. Therefore, structural determination of membrane proteins remains one of the biggest challenges in structural biology.

Solid-state NMR (SSNMR) provides ways to study the structure and dynamics of membrane proteins in their lipid environment. It has been increasingly used in recent years to provide accurate structural information in the form of distance constraints, accurate torsional constraints, and

orientational constraints for transmembrane helices. The capability of magic-angle spinning (MAS) SSNMR to solve complete protein structures has recently been demonstrated for several small globular proteins in a microcrystalline form. MAS SSNMR study of membrane proteins is more challenging because of its generally lower sensitivity, high spectral degeneracy, and more complicated sample preparation.

We have started SSNMR study of the structure and dynamics of archaeal rhodopsin in the lipid environment. Halorhodopsin (HR), a member of archaeal rhodopsins, is a seven-transmembrane protein. It contains retinal as a chromophore and acts as a light-driven chloride pump in the lipid membrane environment. Its pump activity is related to cellular electrochemical potential. In the photo-excited state or chloride-bound state, HR would undergo dynamic structural changes such as helix moving, opening of uptake channel, etc. However, there is no direct evidence for these structural changes of HR in the lipid. The purpose of this study is to characterize the structure and dynamics of HR in the lipid environment by using SSNMR. In this study, we performed three-dimensional solid-state NMR measurement using uniformly or amino acid reversely ^{13}C and ^{15}N labeled halorhodopsin for the first step.

Materials and Methods

E. coli strain BL21 (DE3) cells were transformed with a plasmid encoding C-terminally 6× His-tagged *Natronomonas pharaonis* HR (*NpHR*), and cultured in M9 minimal medium using $^{13}\text{C}_6$ -glucose and ^{15}N -ammonium chloride. After cells

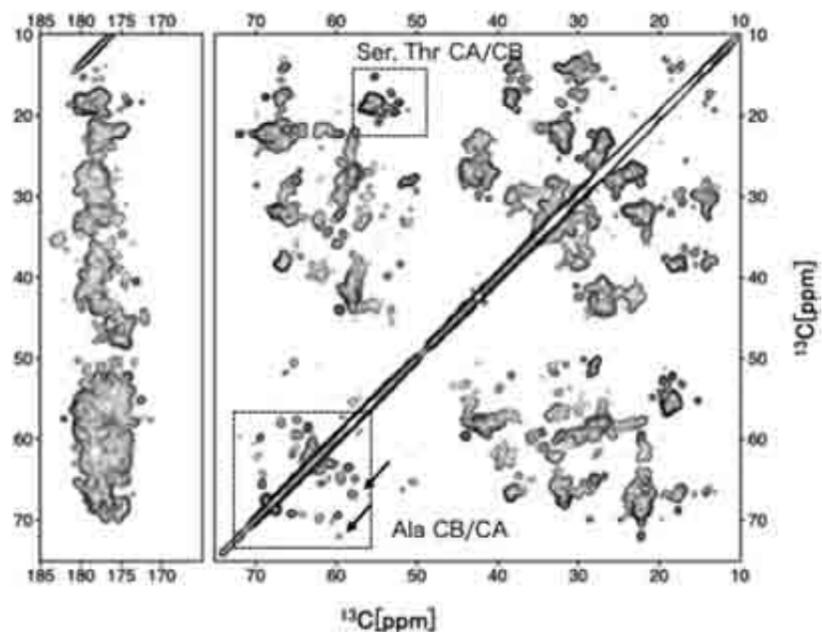


Fig.1 2D ^{13}C - ^{13}C Correlation spectrum of uniformly ^{13}C , ^{15}N labeled *NpHR*. Carbon-carbon mixing steps were performed under DARR in 20ms. Downfield shifted serine and threonine peaks are indicated by arrows. Alanine, serine and threonine resonances are shown in the box.

harvesting and breaking by French press, crude membrane was solubilized by n-dodecyl- β -D-maltoside (DDM). The supernatant containing *NpHR* was purified by Ni-NTA-agarose. *NpHR* was reconstituted into liposome, constituted of DMPC- d_{54} and DMPA (9.72:1, w/w) lipid mixture, at a lipid:protein molar ratio of 20:1. Reconstituted *NpHR* was washed several times in 100mM NaCl, 10mM sodium acetate, pH 5.0, and placed in a 3.2-mm o.d. zirconia pencil-type rotor. SSNMR measurements were performed on a Varian Infinity-plus 600 and 700 spectrometer operating at 600 and 700 MHz, respectively. The MAS frequency was kept at 12.5 kHz. The probe temperature was maintained at -5°C . Carbon-carbon mixing steps were performed under DARR.

Results and Discussion

To examine the sample quality, we collected 2D ^{13}C - ^{13}C and ^{13}C - ^{15}N (NCACX) correlation spectra of uniformly labeled *NpHR*. Downfield shifted serine and threonine peaks (**Fig.1**, indicated by arrows) strongly suggest *NpHR* in proteoliposome has β

-sheet structure. It has been reported that crystal structure of *NpHR* (PDB ID: 3a7k) has short β -sheets in the loop between 2nd and 3rd transmembrane helices called B-C loop, which contains the corresponding residues, serine and threonine. In addition, some serine and threonine residues are contained in the short interhelical loop regions. The results from a ^{13}C - ^{13}C correlation experiment agree with the crystal structure. High dispersion of alanine, serine and threonine peaks in the box of **Fig.1** and glycine peaks in a NCACX spectrum (data not shown) indicate homogeneous sample condition. We performed three-dimensional solid-state NMR of 3D-NCACX, NCOCX, CONCA for the sequential assignment. As a result, we succeeded in obtaining high-resolution 3D spectra. In addition, we confirmed a sequential backbone walk have been constructed by these 3D spectra.

These results are fundamental of structural and dynamic analysis of 7TM-protein, *NpHR* by using SSNMR.

Membrane Protein, Halorhodopsin

若手ポスター賞受賞講演

Ex-situ ^7Li MAS NMR of a lithium cobalt oxide thin film on sequential annealing

¹Division of Chemistry, Graduate School of Science, Kyoto University

²Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University

Yasuto Noda¹, Munehiro Inukai², Kazuyuki Takeda¹

We have developed a novel approach to non-destructive MAS NMR for thin-film samples, and successfully traced the sequential annealing effects on the local structure of a 200 nm-thick LiCoO_2 film by ex-situ ^7Li MAS NMR. The results suggest that in the first annealing period of 3 minutes, the film transformed from the amorphous to crystalline phase. Further, we found that many oxygen defects remained even after 6th annealing period of 18 minutes.

Introduction

Thin-film lithium-ion batteries (TFLIBs) are composed of solid films of anode, solid electrolyte, and cathode materials deposited on a substrate. TFLIBs are highly safe, light, and flexible batteries, while retaining the favorable properties of lithium ion batteries, such as high-energy density and long lifetime.^[1] For cathode materials of TFLIBs, LiCoO_2 is widely adopted out of various candidates. The LiCoO_2 thin films are prepared by physical vacuum vapour processes, followed by annealing treatment for increasing crystallinity. Their characterization is of interest because the lifetime and the capacity of TFLIBs strongly depend on the state of the cathode.

Solid-state NMR (SSNMR) is a powerful tool to extract information of the local and electronic structure in the cathode materials of lithium ion batteries.^[2] SSNMR enables analysis of highly disordered systems, and can complement characterization by the other methods. However, it has not been widely used in the studies of the thin-film devices.

One of the reasons is that the conventional high-resolution SSNMR employs a cylindrical container

optimised for magic angle spinning (MAS),^[3, 4] which is an essential technique providing high-resolution spectra of polycrystalline samples by mechanical sample rotation around an axis tilted at the magic angle (54.7°) to the external magnetic field. A few MAS NMR works on the thin-film samples reported so far resorted to either scratching the sample off the substrate before being packed into the rotor^[5-9], or stacking many small pieces of the films that fit in the rotor^[10-12]. These approaches require tedious sample preparation. Furthermore, the experiments destroy the sample, hampering ex-situ characterization of the thin film devices. So far, nondestructive SSNMR analyses of the thin films have only been feasible in non-spinning samples,^[13] in which high-resolution measurement is limited to samples without anisotropic structure.

For non-destructive analyses of thin films using high resolution SSNMR, we have developed a novel MAS method, named as disk MAS.^[14]

Non-destructive MAS NMR for thin-films: disk MAS

Fig. 1(a) schematically depicts the method. A disk-shaped sample is put on the top of a rotor via an attachment, and spun together with the rotor at the magic angle by a conventional spinning module. This is an analogue of microcoil-MAS with a capillary tube put on the top of a rotor,^[15-17] however, spinning of a flat body requires more careful adjustment of the weight balance, as the moment of inertia for the disk is much larger than that for the capillary. Using a jig, we glued a circular quartz substrate to an attachment at the exact coaxial position, which was then mounted on the top

of a Varian 4 mm rotor. We verified stable spinning at 7 and 14.2 kHz for sample diameters of 12 and 7 mm, respectively, whereas the nominal maximum spinning speed for the unmodified system was 15.0 kHz. Furthermore, we found that even a square quartz substrate with a length of 8 mm was stably spun at 7 kHz, by positioning its center of mass on the spinning axis precisely.

In order to apply radio frequency (r.f.) pulses to the thin-film sample and detect NMR signals, an additional probe, named a disk MAS probe, is fixed on the spinning module, as described in Fig. 1(a). The main body of the disk MAS probe is a compact board, on which a coil and capacitors are placed. The coil was wound with a silver wire. Its diameter, length, and number of turns were 14 mm, 5 mm, and 3, respectively. The circuit was tuned at 116.4 MHz, which corresponds to the ^7Li Larmor frequency in a magnetic field of 7 T. The quality factor was measured to be 150.

To calibrate the r.f. amplitude and r.f. inhomogeneity, we carried out ^7Li nutation experiments with 1 M LiCl aqueous solution. The liquid sample put in a cylindrical container with a diameter of 12 mm and a depth of $400\ \mu\text{m}$ was placed at the position where the disk sample was to be located. The container was made of a Teflon rod. Using a lathe, a pit with a depth of $400\ \mu\text{m}$ was made on the rod, from which a disk-shaped container was cut. Then, the pit was sealed with a cover glass, and the liquid reference sample was injected. KBr

powder was packed into the rotor, so as to adjust the magic angle through measurement of the rotational echoes of the ^{79}Br FID using the coil of the MAS probe. Even though the thin film was axially off the magnet center, magnetic field homogeneity of less than 1 ppm was attained by the conventional shimming.

Fig. 1(b) shows power dependence of the r.f. amplitude for the disk MAS probe. For comparison, the result obtained using a home-built 4 mm MAS probe, whose quality factor was measured to be 41, is also plotted. We verified that the r.f. efficiency of the disk MAS probe was lower than that of the MAS probe only by a factor of 2.0. This is ascribed to the higher quality factor of the disk MAS probe (150). From the decay of the nutation curve, the r.f. inhomogeneity was estimated to be ca. 16% over the sample volume.

Ex-situ ^7Li disk MAS NMR

In order to follow the effects of sequential annealing on the local structure of the LiCoO_2 thin films, single pulse NMR and sample annealing were repeated. A 200 nm-thick LiCoO_2 thin film was sputtered on a quartz substrate with 12 mm diameter and 0.5 mm thick at room temperature. The number of the ^7Li spins contained in the sample was estimated to be $1.1\ \mu\text{mol}$ from the volume of 22.6 nL.

Ex-situ ^7Li MAS NMR experiments were performed at 116.4 MHz in 7 T with the disk MAS

probe. Spectra were recorded with single-pulse experiments in the spinning at 5 kHz. The pulse width was $8\ \mu\text{s}$ with an input power of 54 W, which corresponds to the r.f. magnitude of 25 kHz. The ^7Li FIDs were accumulated over 300000 times with a relaxation delay of 100 ms. The total experimental time was 8.5 hours for each annealing stage.

After the first NMR measurement, the sample was removed from the attachment, then annealed at $400\ ^\circ\text{C}$ for 3 minutes in a pre-warmed furnace, and cooled in the atmosphere. Then the sample was mounted on the attachment again, and disk MAS NMR was performed in the same experimental conditions. The above steps were repeated until the total annealing time was 18 minutes.

Fig. 2 shows ex-situ ^7Li disk MAS NMR spectra. While the spectrum of non-annealed (as-deposited) sample showed relatively weak signals, a center peak at 0 ppm and a number of spinning sidebands were observed after the first annealing time of 3 minutes. The chemical shift of the center peaks corresponded to that of the LiCoO_2 crystal. We found that the line width was much larger than that due to the static field inhomogeneity. This indicates the presence of magnetically nonequivalent ^7Li spins.

Considering the similar profile of the spinning side-bands reported in ^7Li MAS NMR of LiCoO_2 in the paramagnetic state,^[18-20] a part of the diamagnetic Co^{3+} ions in the LiCoO_2 thin film has presumably changed into paramagnetic Co^{2+} ions, suggesting the existence of oxygen vacancies.

The intensity of the center peak after the first annealing increased by a factor of 7.7. Then the intensity gradually grew as further annealing the sample for up to 18 minutes, as shown in Fig. 3. In a recent report, a LiCoO_2 thin film sputtered at room temperature was found to be mostly amorphous, and crystallizes after annealing for 9-15 minutes.^[21] The weaker peak intensity of the as-deposited sample could be due to the distribution of the paramagnetic interaction.

The change in the spectra observed in the present work suggests that the as-deposited LiCoO_2 thin film in the amorphous phase underwent transition within 3 minutes annealing into the

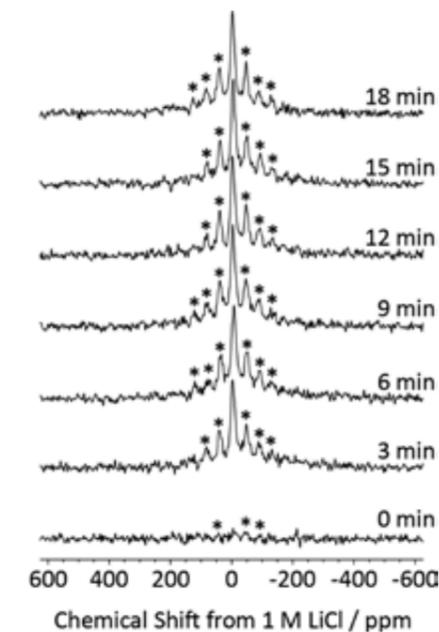


Fig. 2. Ex-situ ^7Li disk MAS NMR spectra of an identical 200 nm thick LiCoO_2 thin film annealed sequentially at $400\ ^\circ\text{C}$ for 3 minutes. The asterisked peaks are the spinning sidebands.

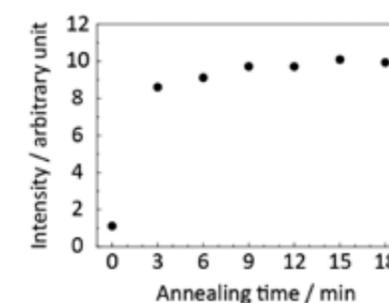


Fig. 3. Annealing-time dependence of the center peak intensity of ^7Li disk MAS spectra of the LiCoO_2 thin film.

crystalline phase, in which oxygen vacancies remained after the net annealing period of 18 minutes.

Acknowledgment

We appreciate the fruitful discussions with Prof. K. Takegoshi (Kyoto University). This work was financially supported by Core Research of Evolutional Science and Technology of Japan Science and Technology agency (CREST/JST).

References

- [1] J. B. Bates, N. J. Dudney, B. Neudecker, A. Ueda, and C. D. Evans, *Solid State Ionics* **135** (2000) 33-45.

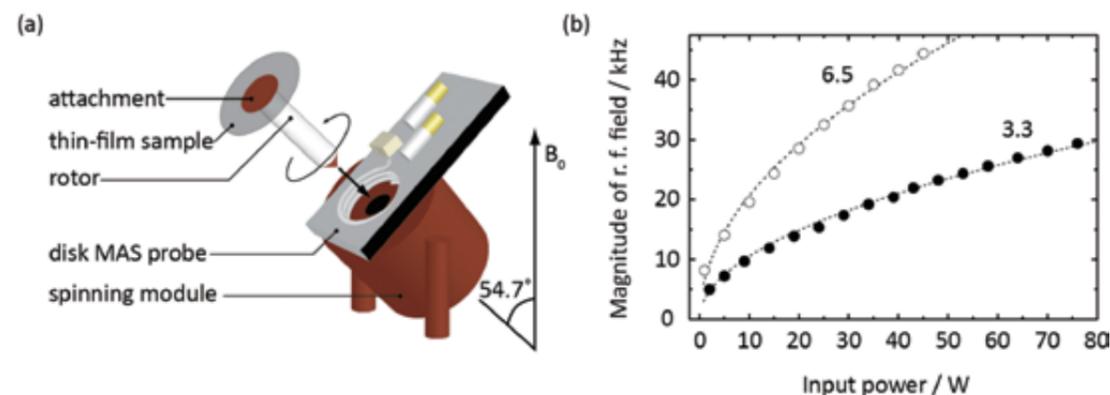


Fig. 1. (a) A schematic description of disk MAS. (b) Input-power dependence of the r.f. field magnitude at 116.4 MHz in the disk MAS probe (filled circles) and a home-built 4mm rotor probe (open circles). The magnitude of r.f. fields was obtained from the ^7Li nutation experiments with LiCl aqueous solution. The data points were fitted by a square root function of the form $y=a\sqrt{x}$, and the coefficient a is depicted for each set of the data.

- [2] C. P. Grey and N. Dupr, *Chem. Rev.* **104** (2004) 4493-4512.
- [3] E. R. Andrew, A. Bradbury, and R. G. Eades, *Nature* **182** (1958) 1659-1659.
- [4] E. R. Andrew, A. Bradbury, and R. G. Eades, *Nature* **183** (1959) 1802-1803.
- [5] T. M. Alam and H. Y. Fan, *Macromol. Chem. Phys.* **204** (2003) 2023-2030.
- [6] K. Landskron, B. D. Hatton, D. D. Perovic, and G. A. Ozin, *Science* **302** (2003) 266-269.
- [7] B. D. Hatton, K. Landskron, W. Whitnall, D. D. Perovic, and G. A. Ozin, *Adv. Funct. Mater.* **15** (2005) 823-829.
- [8] A. Mazaj, S. Costacurta, N. Z. Logar, G. Mali, N. N. Tusar, P. Innocenzi, L. Malfatti, F. Thibault-Starzyk, H. Amenitsch, V. Kaucic, and G. Soler-Illia, *Langmuir* **24** (2008) 6220-6225.
- [9] C. A. Steinbeck, M. Ernst, B. H. Meier, and B. F. Chmelka, *J. Phys. Chem. C* **112** (2008) 2565-2573.
- [10] C. Glaubitz and A. Watts, *J. Magn. Reson.* **130** (1998) 305-316.
- [11] N. A. Oyler and R. Tycko, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 4478-4479.
- [12] D. L. VanderHart, V. M. Prabhu, K. A. Lavery, C. L. Dennis, A. B. Rao, and E. K. Lin, *J. Magn. Reson.* **201** (2009) 100-110.
- [13] J. P. Yesinowski, *Phys. Stat. Sol. C* **7** (2005) 2399-2402.
- [14] M. Inukai, Y. Noda, and K. Takeda, *J. Magn. Reson.* **213** (2011) 192-195.
- [15] H. Janssen, A. Brinkmann, E.R.H. van Eck, P.J.M. van Bentum, and A.P.M. Kentgens, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 8722-8723.
- [16] K. Yamauchi and T. Asakura, *Chem. Lett.* **35** (2006) 426-427.
- [17] M. Inukai and K. Takeda, *Concepts Magn. Reson. B* **33** (2008) 115-123.
- [18] M. Menetrier, Y. Shao-Horn, A. Wattiaux, L. Fournes, and C. Delmas, *Chem. Mater.* **17** (2005) 4653-4659.
- [19] K. Nakamura, H. Hirano, D. Nishioka, S. Endou, K. Itsuki, Y. Michihiro, T. Moriga, N. Kuwata, and J. Kawamura, *Solid State Ionics* **180** (2009) 621-625.
- [20] M. P. J. Peeters, M. J. van Bommel, P. Wolde, H. A. M. van Hal, W. C. Keur, and A. P. M. Kentgens, *Solid State Ionics* **112** (1998) 41-52.
- [21] H. Y. Park, S. C. Nam, Y. C. Lim, K. G. Choi, K. C. Lee, G. B. Park, J. B. Kim, H. P. Kim, and S. B. Cho, *Electrochim. Acta* **52** (2007) 2062-2067.

若手ポスター賞受賞講演

The structure of retinal protein on activated state as revealed by *in-situ* photo-irradiated solid-state NMR

¹Graduate School of Engineering, Yokohama National University, Yokohama, Japan

²Kobe Pharmaceutical University, Kobe, Japan

³Nagoya University, Nagoya, Japan

⁴Matsuyama University, Matsuyama, Japan

Yuya Tomonaga¹, Izuru Kawamura¹, Akimori Wada²
Takashi Okitsu², Yuki Sudo³, Naoki Kamo⁴, Akira Naito¹

Retinal proteins have actions as 1) photo sensor or 2) ion transporter in microbacteria and human eyes. *ppR* (*pharaonis* phoborhodopsin) belongs to 1) photo sensor family and works to negative phototaxis in *Natronomonas pharaonis*. It is functioning through some photo-intermediates. We first developed the system of *in-situ* photo-irradiated solid-state NMR. By using this system, we have successfully detected the photo intermediate of *ppR* and revealed the structural and chemical shift changes from ground state to activated state. We will show that this system will be directly applicable to detect photo-active intermediate by *in-situ* photo irradiation.

Introduction

Pharaonis phoborhodopsin (*ppR*) is a photoreceptor acting as negative phototaxis in *Natronomonas pharaonis*. *ppR* forms a 2:2 complex

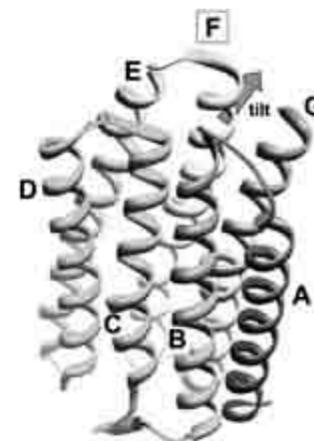


Figure 1. A crystal structure of *ppR* (PDB: 1H2S)

with its transducer protein, *pHtrII*, in the membrane. Light absorption of *ppR* initiates *trans-cis* photoisomerization of retinal chromophore followed by cyclic chemical reaction involving in several intermediates (K, L, M, and O). Among these intermediate, M intermediate is thought to be active states for signal transduction because M intermediate have long half-lifetime of 1.7 s. In fact, helix movement of *ppR*, outward tilting of the helix F, during the photocycle is suggested by various groups^[1], and it is thought to be an essential step for the activation of *pHtrII*. However no helix-tilting was observed in the crystal structure of the M-intermediate of the *ppR/pHtrII* complex^[2]. Thus the structural changes upon the formation of the active M-intermediate continue to be an exciting topic of discussion, though high-resolution structural studies have been a major challenge. On the other hand, solid-state NMR techniques can be applied to elucidate local structure around site-specific positions for such membrane embedded systems^[3, 4]. In this study, we successfully trapped the M-intermediate using the newly developed *in-situ* photo-irradiated solid state NMR spectrometer and obtained the NMR signals from the retinal of *ppR* to gain piercing insights into the mechanism of signal transduction in *ppR/pHtrn* complex.

Experimental

We first developed an *in-situ* photo irradiation system for solid-state NMR under the magic angle spinning condition. *In-situ* cotinuous

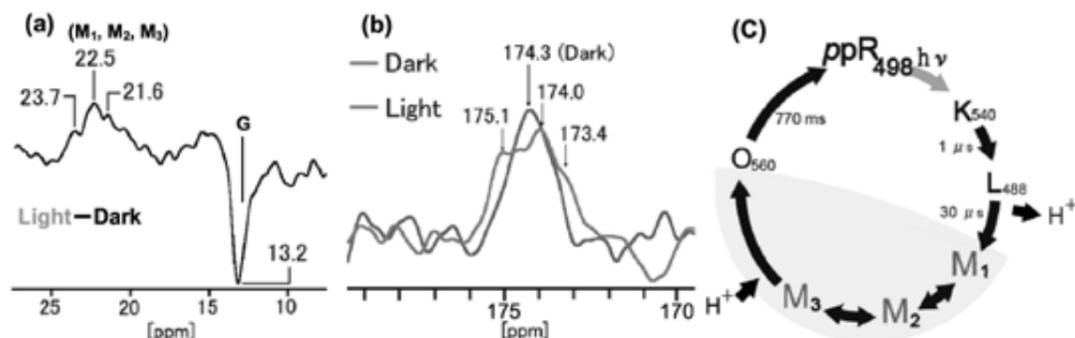


Figure 2. (a) and (b) are ^{13}C NMR spectrum of ppR/pHtrII complex. (a) is the difference NMR spectra of C_{20} between light and dark conditions. (b) is the NMR spectrum of Tyr174 in the dark and light conditions. Sample temperature is at -20°C . (c) is a new model of ppR-photocycle.

photo-irradiation was made by an optical fiber from outside the magnet through a tightly sealed piece of cap made of glass rod glued to the zirconia rotor. Using this system, we could successfully irradiate green LED light (around 530 nm) of 1–100 mW to the sample in the rotor. *In-situ* photo irradiated NMR signals were acquired by means of CP-MAS and REDOR filter methods with the spinning frequency of 4kHz.

Results and Discussion

To understand molecular mechanism of negative phototaxis, it is important to detect the conformational change of retinal as well as protein side in the photo-activated state. First, in this study, the signal of $[20\text{-}^{13}\text{C}]\text{Retinal}$ in the M-state ppR/pHtrII complex split into three peaks by using *in-situ* photo-irradiated solid-state NMR (Fig. 2a). To observe conformational change of protein-side during photo activation, we focused on hydrogen-bond between Tyr174 and Thr204, which is the most important interaction of signal transduction in the initial process, and assigned the chemical shifts of $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{Tyr174}$. In the ground state of ppR/pHtrII complex, the ^{13}C NMR signals of $[1\text{-}^{13}\text{C}]\text{Tyr174}$ appeared at 174.3 ppm and in the M-state,

they appeared at 173.4, 174.0, 175.1 ppm (Fig. 2b). These results indicate that the states of individual splitting peaks are not attributed to difference of local electron density around retinal, but difference of protein conformations. Since the peaks of Tyr and Ret in the M-state of T204A^{ppR} do not show splitting, it is revealed that multi-conformations appeared only in the M-state of wt-ppR (Fig 2c). It is, therefore, stressed that multiple M-states is very important factor for signal transduction process.

Reference

- [1] (a) Wegener, A.A., Chizhov, I., Engelhard, M., & Steinhoff, H.I. *J. Mol. Biol.* 2000, 301, 881-891. (b) Spudich, J. L. *Mol. Microbiol.* 1998, 28, 1051-1058. (c) Yoshida, H., Sudo, Y., Shimono, K., Iwamoto, M. & Kamo, N. *Biochem. Photobiol. Sci.* 2004, 3, 537-542
- [2] Moukhametzianov, R., Klare, J. P., Efremov, R., Baeken, C., Goppner, A., Labahn, J., Engelhard, M., Buldt, G., & Gordeliy, Y.I. *Nature* 2006, 440, 115-119
- [3] Kawamura, I., Yoshida, H., Ikeda, Y., Yamaguchi, S., Tuzi, S., Saito, H., Kamo, N., & Naito, A. *Photochem. Photobiol.* 2008, 84, 921-930.
- [4] Etzkorn, M., Seidel, K., Li, L., Martell, S., Geyer, M., Engelhard, M., & Baldus, M. *Structure* 2010, 18, 293-300

Retinal, NMR, membrane

NMR基礎講座

2次元NMR：フーリエ変換と共分散

京都大学大学院理学研究科化学

竹腰 清乃理

1. 始めに

数々の2次元測定法が提案されているが、それらは大まかに(1) 相関タイプと(2) 展開タイプに分けることが出来るだろう。

相関タイプの2次元測定は各ピークの間関係(相関)を見ることが出来る。その関係は、大きく分けて(a) 化学結合で繋がっている(J相互作用がある)(b) 距離が近い(双極子相互作用がある)(c) 化学交換している、などがある。例えば、J相互作用のある核間にピークが出るように設計された測定(COSY, INADEQUATE, HSQCなど)や、距離が近いとピークが出るように設計された測定(NOESY, DARRなど)がある。

展開タイプでは普段は高分解能化のために消去されている相互作用を2次元スペクトルで分離展開する。例えば、マジック角回転(MAS)で消去されている化学シフト異方性を各ピークについて展開する測定や、デカップルで消去されている ^1H - ^{13}C のJ分裂を各 ^{13}C ピークについて展開する方法などがある。

ここではまず(1c)の化学交換があるとピークが出る方法(2次元交換NMR法)を例として2次元

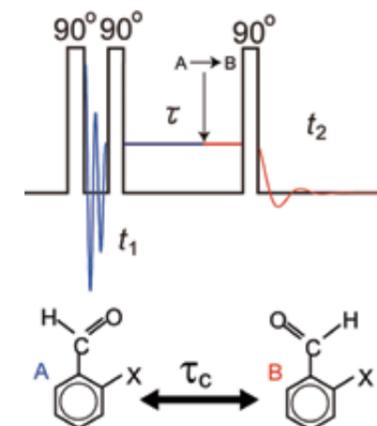


図1 2次元交換NMRのパルスシーケンスの模式図と交換の1例。交換時間 τ におけるアルデヒド基の180度フリップによって、 t_1 時間でAだった磁化が t_2 時間ではBになっていた。

測定について解説し、その代表的な処理法であるフーリエ変換と近年提案されてそのメリットが実感されつつある共分散法について比較紹介する。

2. 2次元測定(2次元交換NMRを例として)

図1に2次元交換NMRのパルスシーケンスを模式的に描いた。3つの90度パルスで展開時間(t_1)、交換時間(τ)、観測時間(t_2)が区切られている。図では最初はAだったものが τ 中に化学交換を起こしてBになり t_2 で観測されている様子を示している。A/Bの交換の例としてはシーケンスの下に示した様なアルデヒドの回転を覚えておけばよい。

すべての90度パルスの位相をYとして、回転系での磁化の動きを計算しよう。簡単のために最初にAであった磁化を考える。最初のパルスで出来た横磁化 I_x は t_1 で回転系の中心周波数とAの共鳴周波数の差(オフセット周波数 ω_A)で振動する。

$$\rho(t_1) = I_x^A \cos(\omega_A t_1) + I_y^A \sin(\omega_A t_1), \quad (1)$$

次の90度パルスでX成分が縦磁化(-Z成分)に、Y成分はそのまま横磁化として留まる。 $T_1 > \tau > T_2$ であるためにY成分は減衰し、Z成分が τ を生き延びる。 τ の間にAの一部がBになったとすると、

$$\rho(t_1 + \tau) = -c I_z^A \cos(\omega_A t_1) - (1-c) I_z^B \cos(\omega_A t_1), \quad (2)$$

となるだろう。ここで、 T_1 は無視しており、右辺の1項目はAのままであるもの、2項目がBになったものである。3番目のパルスによって観測される磁化は、従って、

$$\begin{aligned} \rho(t_1 + \tau + t_2) &= -c \cos(\omega_A t_1) (I_x^A \cos(\omega_A t_2) + I_y^A \sin(\omega_A t_2)) \\ &\quad - (1-c) \cos(\omega_A t_1) (I_x^B \cos(\omega_B t_2) \\ &\quad + I_y^B \sin(\omega_B t_2)), \end{aligned} \quad (3)$$

とAとBの信号を含むことになる。これをいつものようにフーリエ変換すると、 $-c \cos(\omega_A t_1)$ という強度のAのピークと $-(1-c) \cos(\omega_B t_1)$ の強度のBのピークが得られる。最初Bであった磁化に対応する式は添え字のAやBをそれぞれBやAで置き換えることで求められる。

3. 単純な交換系における展開時間 t_1 の設定

系にAとBしか存在しない場合は、例えば、 $\sin(\omega_B t_1) = 0$ を満たすような t_1 で測定を行うと、交換時間における初期磁化としてはAの縦磁化しか残らない。従って、式(3)に相当する1次元スペクトルが得られ、交換速度($1/\tau_c$)を決定することが出来る。これはいわゆる1次元交換NMR測定^[1]である。

もう少し交換サイトの数が増えても、初期磁化の組み合わせを過不足無くそろえることで、交換(相関)の観測は可能になる。例えば交換がA~B~C~D間の4サイトで起こっているとしよう。この系であれば交換時間での初期磁化を $(M_A, M_B, M_C, M_D) = (1, 1, 1, 1), (1, 1, -1, -1), (1, -1, -1, 1), (1, -1, 1, -1)$ となるような4つの t_1 を選び(うまく選べたとして)、対応する1次元スペクトルを4つ得て、その強度を解析することでABCD間の交換速度を決定することができる。これはいわゆるHadamard(アダマール)変換を用いる方法で、通常は t_1 をうまく設定するというのではなく、選択励起で初期磁化を設定する^[2]。

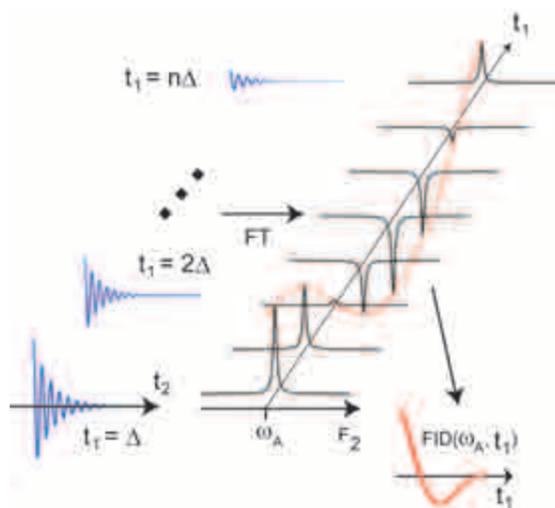


図2 一般的な2次元NMR測定の模式図。 t_1 を間隔 Δ で等間隔に増やして各々 t_1 で1次元スペクトルを得る。得られた多数の1次元スペクトルから各信号強度の t_1 依存性を求め、 t_1 についてFTし、2次元スペクトルを得る。

Hadamard法はシャープな線形の場合に向いているが、化学シフト異方性や双極子相互作用などにより線形が決定されていて信号の分離選択が難しい場合には適用が難しい。また、ピークの数が多い場合には、設定や変換が煩雑になるだろう。従って、通常の2次元NMRの測定では、いろいろな t_1 を用いて多数の1次元スペクトルを測定し、各信号の強度の t_1 依存性を得て、解析を行うことで、 t_1 での周波数情報、上の式(3)の場合は、 ω_A を得る。

4. t_1 依存性の解析：フーリエ変換

信号の強度の t_1 依存性 $M(t_1)$ の解析法で最も良く使われるものにフーリエ変換(FT)がある。

$$S(2\pi\nu) = \int M(t_1) \exp(-i2\pi\nu t_1) dt_1, \quad (4)$$

本来のFTの積分範囲は $[-\infty, \infty]$ であるが、人生は有限であるので、通常の測定範囲は $t_1 = 0 \sim T_2$ 程度であろう。つまり、FTを用いた解析では $0 \sim T_2$ での $M(t_1)$ が無限に繰り返していると仮定している。また、 $M(t_1)$ を連続した関数として測定する事は難しいので、積分は有限和に置き換えなければならない。

$$S(2\pi\nu) = \sum M(t_{1i}) \exp(-2\pi i \nu t_{1i}), \quad (5)$$

ここで t_{1i} は i 番目の t_1 である。

5. もう一度、展開時間 t_1 の設定について

最も広まっている t_1 の設定法はスペクトル幅(Hz)の逆数を Δ とすると、 Δ 間隔で T_2/Δ 点だけ測定する方法である。図2に流れを模式的に示した。等間隔にする理由は式(5)のフーリエ変換を高速に行うアルゴリズムが等間隔を要求するからである。この高速FTにこだわった t_1 の等間隔設定は長い測定時間を要求する。つまり、線幅20Hzの信号が20kHzのスペクトル幅にばらまかれているときには、 $\Delta = 50 \mu\text{s}$ 間隔で少なくとも $t_1 = 20 \text{ms}$ 程度は測定しないとイケない。20ms/50 $\mu\text{s} = 400$ 、つまり、1次元のスペクトルを400(t_1 側の実・虚信号を得る場合には800)も測定しないとイケない!そこで、適当に間引きして測定したり、等間隔ではなくて、指数関数的に間隔を長くして測定し、データ処理の段階で補間してFT用に等間隔にする方法などが行われている。

ここで考えて欲しいのは、近年のPCでは高速FTを用いなくても式(5)を計算することは短時間で可能であるということである。また、 t_1 依存性の解析にFTを使う必要も実はない(次の6節参照)。つまり、 t_1 の観測を等間隔ではなく必要十分な時点でだけサンプリングする、Hadamard法に類似したアイデアがこれから出てくる可能性がある。筆者の勉強不足でそのような方法は既に提案されているのかもしれないし、出てないなら早速研究に入った方がいい。 t_1 に含まれるべき周波数などの情報は普通に1次元NMRスペクトルを観測することで得ることが出来る。つまり、1次元NMRスペクトルから必要十分な t_1 のサンプリングポイントを求めることは原理的には可能だろう。

6. t_1 依存性の解析：FT 以外

最大エントロピー法(Maximum Entropy Method)^[3]が一時注目されたが、安定性の点でFTに取って代わる方法にはなっていない。最近注目されているのは共分散(Covariance)を用いた方法である。共分散は2組のデータ $X = \{x_1, x_2, \dots, x_N\}$ と $Y = \{y_1, y_2, \dots, y_N\}$ の各々の平均 $\langle X \rangle$ 、 $\langle Y \rangle$ からの偏差の積の平均値であり

$$C(X, Y) = (1/N) \sum (X - \langle X \rangle)(Y - \langle Y \rangle) \quad (6)$$

と書かれる。BrüschweilerらはXとYにNOESYやTOCSYなどの同種核間2次元測定で得た t_1 側のFIDを用いた^[4]。例えば、XにAのFID、YにBのFIDを適用し、それらの共分散をA-Bの交差ピーク強度とした。

$$C(M_A(t_1), M_B(t_1)) = \langle M_A(t_1), M_B(t_1) \rangle \quad (7)$$

FT法でのA-Bの交差ピーク強度は式(5)から

$$S(\nu_A, \nu_B) = \sum M_B(t_1) \exp(-2\pi i \nu_B t_1) \quad (8)$$

となり、共分散とFTは良く似ていることが判る。つまり、FTでは周波数 ν_B における理想的な振動 $\exp(-2\pi i \nu_B t_1)$ を用い、共分散では ν_B における実測のFIDを用いて $M_A(t_1)$ との積の平均を求めている。ただし、より正確にはParsevalの定理からCの平方根がFTで得られる交差ピーク強度に対応している。

共分散で必要とされる t_1 ポイント数はFTで必要とされるものより少なくても良いとされており、筆者もある程度はそうであろうと考えるが、上でも述べたように、必要十分な t_1 の数とその設定についてはまだ確立されていないのではないかと思っている。

参考文献

- [1] Connor, C., Naito, A., Takegoshi, K. and McDowell, C.A. (1985) Intermolecular spin-diffusion between ^{31}P nuclei in a single-crystal of dipotassium α -D-glucose-1-phosphate dihydrate; A 1D analog of the 2D exchange NMR experiment. *Chem. Phys. Lett.* **113**, 123-128.
- [2] Kupce, E. and Freeman, R. J. (2003) Two-dimensional Hadamard spectroscopy. *J. Magn. Reson.* **62**, 300-310.
- [3] Sibisi, S., Skilling, J., Brereton, R.G., Laue, E.D. and Staunton, J. (1984) Maximum entropy signal processing in practical NMR spectroscopy. *Nature* **311**, 446-447.
- [4] Brüschweiler, R. and Zhang, F. (2004) Covariance nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Chem. Phys.* **120**, 5253-5260; Brüschweiler, R. (2004) Theory of covariance nuclear magnetic resonance spectroscopy. *ibid.*, **121**, 409-414.



竹腰 清乃理 (たけごし・きよりの)

昭和54年3月 京都大学理学部卒業
 昭和56年3月 京都大学大学院理学研究科修士課程化学専攻修了
 昭和59年3月 京都大学大学院理学研究科博士課程化学専攻修了(理学博士)
 昭和59年4月 カナダブリティッシュコロンビア大学博士研究員
 昭和61年10月 米国カリフォルニア大学バークレー校博士研究員
 昭和62年11月 材料科学技術振興財団研究員
 昭和63年8月 北海道大学高分子学科 助手
 平成5年7月 京都大学理学研究科大学院 助教授
 平成17年 日本核磁気共鳴学会会員(平成18年-平成23年、同学会評議員)
 平成18年10月 京都大学理学研究科大学院 教授(現職)

MRIの基礎

筑波大学数理物質系理工学域

巨瀬 勝美

1. はじめに

MRIは、位置を識別したNMR測定法である。すなわち、MRIはNMRの一部と考えることができる。ところが、MRIから見ると、NMRは、位置を識別しない、いわゆる0次元のMRIと見ることもできる。このように、NMRとMRIの包含関係を、全く逆に考える二つの立場がある(図1)。

さて、MRIの開発により、NMRの測定対象は、溶液や固体試料などの試験管に入った試料から、構造を持った任意の形状を有する試料(生体など)へと大きく拡大した。そして、それまでの分子構造などに関する情報から、生体の解剖学的構造や、疾患等に伴う化学的・物理的な変化の空間的構造など、従来のNMR手法ではアクセスできない空間的情報も得ることができるようになった。また、MRIによる医用診断は、医療では不可欠なものとなっており、装置販売の市場だけでも、世界で年間3,000億円を超え(NMR分光計の世界市場は約800億円/年)、また、その同額程度のお金が、装置のメンテナンスとアップグレードなどに支出されている。

本稿では、MRIの一般的な紹介ではなく、NMR分光計を使用している研究者がMRIを始めるときに必要な知識などを中心に、MRIの解説を行う。

2. MRIの原理と撮像手法

2.1 MRIの原理

MRIの基本原理は、横磁化の発生から信号観測

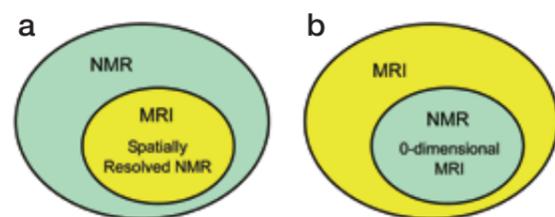


図1 NMRとMRIの関係

(a) NMRはMRIの一部(討論会的見方)、(b) NMRは0次元MRI(MRI業界の見方)

までの間に、線形勾配磁場を印加し(位相エンコード)、線形勾配磁場の時間積分値を変化させて信号を観測し、その信号のセットを、多次元フーリエ変換することである。すなわち、3方向の勾配磁場強度を $G_x(t)$ 、 $G_y(t)$ 、 $G_z(t)$ とし、

$$k_x(\tau) = \frac{\gamma}{2\pi} \int_0^\tau G_x(t) dt, \quad k_y(\tau) = \frac{\gamma}{2\pi} \int_0^\tau G_y(t) dt$$

$$k_z(\tau) = \frac{\gamma}{2\pi} \int_0^\tau G_z(t) dt$$

とおくと、NMR信号は、 $M(x, y, z)$ を核磁化分布として、

$$S(k_x, k_y, k_z) = \iiint M(x, y, z) \exp(-i2\pi k_x x - i2\pi k_y y - i2\pi k_z z) dx dy dz \quad (1)$$

と書くことができる(緩和項は無視)。よって、核磁化分布は、その逆フーリエ変換、

$$M(x, y, z) = \iiint S(k_x, k_y, k_z) \exp(i2\pi k_x x + i2\pi k_y y + i2\pi k_z z) dk_x dk_y dk_z \quad (2)$$

によって得ることができる^[1]。

このとき k_x, k_y, k_z を3軸とする k 空間で、どのように信号を取得していくか(k 空間におけるtrajectory^[2]とサンプリング密度)によって、再構成される画像の画像視野、空間分解能、画像歪みの性質、画像アーチファクトの性質、画像コントラストなどが決定される。なお、化学シフトに関しては、その軸を追加して、 k 空間+化学シフト軸の4次元空間^[3]、また、多次元NMRにおけるその他のパラメータに関しても、 k 空間に次元を追加することにより、MRIを一般化することができる。

2.2 撮像手法

MRIでは、(1)に示した k 空間における信号サンプリングを行う戦略が、具体的な撮像手法を作り

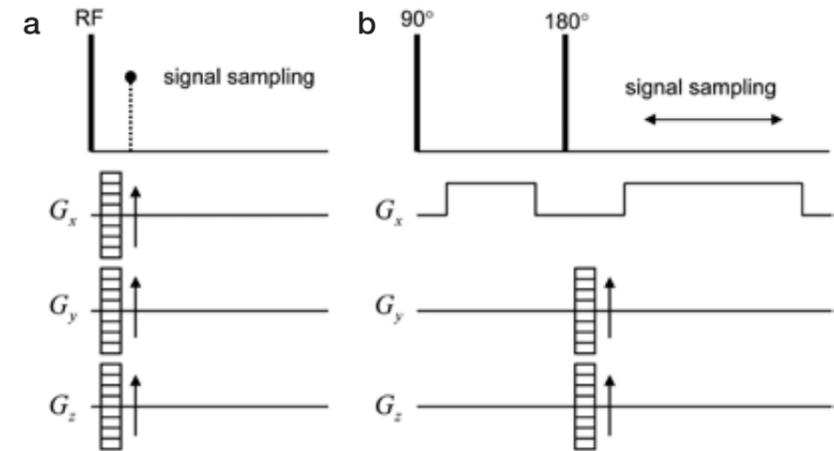


図2 標準的なMRIパルスシーケンス

(a) Single Point Imaging、(b) Conventional 3D spin echo imaging

出す。

まず、 T_2 が短い固体試料や、静磁場が不均一な場合には、3軸の位相エンコードのみで撮像する手法(Single Point Imaging (SPI)もしくはConstant Time Imaging (CTI))が使われる。この方法では、3軸方向の画素数を M, N, L としたときに、少なくとも $M \times N \times L$ 回の励起回数が必要となる(図2(a))。

次に、広く一般的に行われているのが、均一な静磁場を用い、1軸もしくは2軸で位相エンコードを行った後に、残りの軸の勾配磁場を加えながら信号サンプリングを行う手法である(図2(b))。これにより、SPIなどにおける1次元の位相エンコード分の時間を節約することができる。また、この場合、二次元イメージングであれば、選択励起パルスを用いて特定のスライス面を励起することが行われる。

さて、MRIでは、FID信号と反転勾配磁場により得られる勾配エコー、2個のRFパルスにより得られるスピンエコー、3個以上のRFパルスにより得られる励起エコーなどの高次エコーなどが利用され、それぞれの信号の性質に応じた画像コントラストが得られる。

3. MRI装置

3.1 MRIシステムの種類

MRIシステムは、その用途などから、①人体全身用、②小動物用、③MR microscopy用、④永久磁石を用いた小型MRIなどに分類される。人体全身用MRIは、医療施設で広く使われているもので、国内には約6,000台が設置され、静磁場強度は、0.2~3.0Tである(研究用は、国内では最高7T)。

小動物用MRIには、水平ボアの超伝導磁石(2~14T)を使ったものと、永久磁石(1~2T)を使ったものがある。

MR microscopy用としては、高分解能NMR用縦型超伝導磁石に勾配磁場プローブを組み合わせて、(数10 μm)³以下の分解能を実現するものが使用されている。また、永久磁石を用いた小型MRIとしては、小型永久磁石(0.1~1.0T、数100kg以下)を用い、省スペース性、開放性、移動可能性などを特長とした、多様なシステムが提案されている^[4]。

3.2 MRIシステムの構成

MRIは、NMR分光計に、勾配磁場コイルと勾配磁場電源を付加した構成となっている。ただし、最近のNMR分光計の高級機種では、多次元NMRのアーチファクト抑制のために、勾配磁場コイルが標準的に装備されている。

人体全身用MRIが、その幾何学的サイズと勾配磁場コイルの装備以外に、標準的なNMR分光計と異なるところは、RFコイルが送受信分離となっており、かつ、受信コイルが多チャンネル(標準で16~32)となっていることである。このため、レシーバーも多チャンネルとなっており、パラレルイメージングが標準的に行われている。

また、撮像などに使われるシステムソフトウェアが、MRI専用となっており、NMR分光計の計測ソフトウェアとは、かなり趣の違ったものとなっている。

4. MRIにおける空間分解能と画像コントラスト

4.1 空間分解能

MRIはデジタル画像であるため、空間分解能の

下限は画素サイズとなる。そして、空間分解能と画素サイズが一致するためには、

- (1) NMRの共鳴線幅<画素あたりの周波数帯域
- (2) 画素あたりの signal to noise ratio (SNR) が6以上 (Rose criterion)

という2つの条件を満たさなければならない(分子拡散や流れの影響は除く)。

さて、信号読み取り方向の画素サイズ Δx は、 G_x を信号読み出し勾配磁場強度、 T を信号読み取り時間として、

$$\Delta x = \frac{2\pi}{\gamma G_x T} \quad (3)$$

と表される。 T はNMR信号の画素あたりの T_2^* により上限が決まっており、また T_2 コントラストの点から、あまり長くすることはできない。よって画素サイズを小さくするためには、強力な勾配磁場が必要となる。たとえば、 $T=5\text{ms}$ として $10\ \mu\text{m}$ の画素サイズを実現するためには、 47G/cm の勾配磁場強度が必要となる。

上記の勾配磁場強度を発生することは、NMR分光計用に設計された勾配磁場プローブでは難しいことではなく、たとえば、MR microscopy と言われる(数 $10\ \mu\text{m}$)³ 以下の空間分解能を実現しようとする場合には、2番目の条件、すなわち、画素あたりのSNRを実現することが問題となることが多い。このため、高い分解能を実現するためには、強い静磁場と感度の高いRFコイルが必須となる。

また、高い空間分解能を実現するためには、多くの場合、大きな撮像マトリクス (256^3 、 512^3 など)

を使用するが、このような場合には、信号と受信系の dynamic range (DR) に配慮する必要がある。MRIにおいて、DRを調べる場合には、横軸に k 空間の中心からの距離、縦軸にその距離(近傍)にあるNMR信号の平均電力を log-log プロットした k-power plotが有用である(図3)^[5,6]。これを用いると、実現可能な空間分解能などについての情報を得ることができる。

4.2 画像コントラスト

MRIで得られる画像は、横磁化の分布画像である。もっと正確に言えば、 k 空間の中心の時刻における横磁化分布である。このため、ほぼ必然的に、画像コントラストは T_2 の影響を受ける。また、Echo Planar Imaging (EPI) などのワンショットの手法以外の撮像法では、繰り返し核スピン系を励起して k 空間をスキャンすることによりデータ収集を行うので、RF励起と核スピン緩和の定常状態で撮像するか、あるいは非定常状態で撮像するかによって、 k 空間における横磁化の分布が異なり、得られる画像のコントラストも異なる。

横磁化分布に影響を与えるパラメータは、試料に内在する内部パラメータと、撮像手法で決定される外部パラメータに大きく分けることができる。

内部パラメータは、スピン密度、緩和時間 (T_1 、 T_2 、 T_2^* 、 $T_{1\rho}$ 、その他交差緩和時間)、拡散係数(テンソル)、流れ(マクロ、ミクロ)、BOLD効果などであり、外部パラメータは、TR(シーケンスの繰り返し時間)、TE(エコー時間)、FA(フリップ角)、 b value(拡散現象に関するパラメータ)、勾配磁場

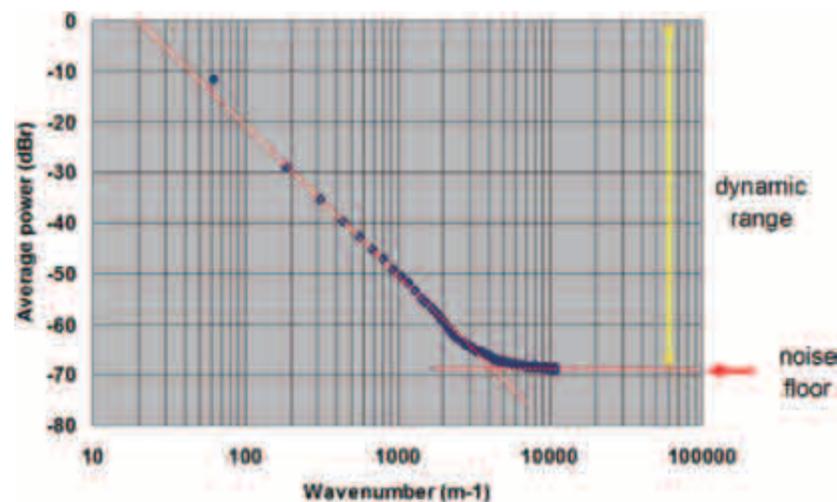


図3 k-power plot。一定の傾きをもった直線(NMR信号)と水平な線(noise floor)から形成される。NMR信号は、通常、 $\sim k^3$ の一定の傾きを有し、noise floorは、主にRFコイルやプリアンプなどからの熱雑音に起因する。

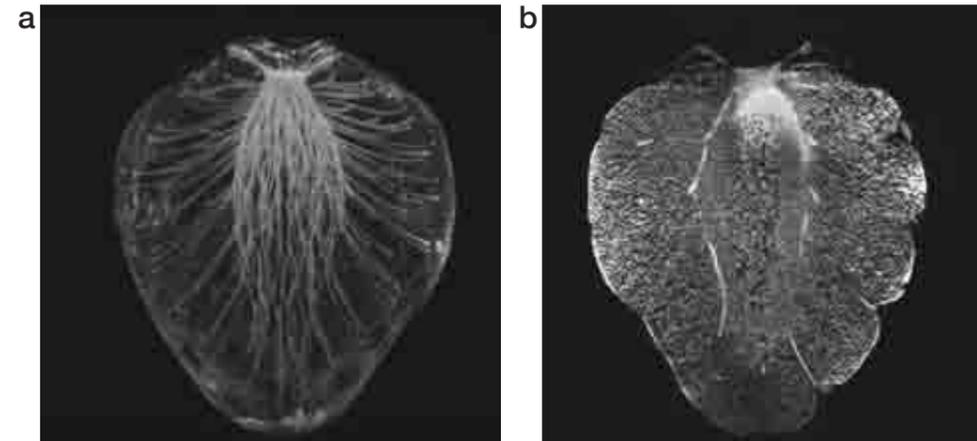


図4 イチゴの3D画像から作成した(a)最大値投影画像。TR=200ms、TE=3.5msの勾配エコー法で撮像。画像視野(32mm)³、画像マトリクス256³、画素サイズ(125 μm)³(b)中央付近の断層面。TR=600ms、TE=12msのスピネコー法で撮像。その他のパラメータは(a)と同じ。上記の画像は、4.7Tの縦型ワイドボア超伝導磁石において、直径27mmのソレノイドコイルを用いて撮像。

(a)Maximum intensity projection、(b)Vertical slice of PDW image

モーメント(流れに伴う位相シフトに関係する)などである。

最も典型的な画像コントラストは、単純スピネコー法によるもので、画素強度を $I(x, y, k)$ を定数として、

$$I(x, y) = k\rho(x, y) \left\{ 1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1(x, y)}\right) \right\} \exp\left(-\frac{TE}{T_2(x, y)}\right) \quad (4)$$

と表される(二次元画像の場合)。このように、画像コントラストは、緩和時間の大きな影響を受けるが、それはTRやTEとの比で決まる。よって、 T_1 と T_2 のTRとTEに対する比によって、画像全体のコントラストが決定され、一番支配的コントラストが、スピン密度、 T_1 、 T_2 の時の画像が、それぞれ、密度強調画像(Proton Density Weighted Image: PDW)、 T_1 強調画像(T_1 Weighted Image: T1W)、 T_2 強調画像(T_2 Weighted Image: T2W)と呼ばれる。

これらの3種類の強調画像は、臨床診断で広く使われ、スピネコーではなく勾配エコーを使った場合や、多数のスピネコー信号を用いた高速スピネコー法などでも、これらの画像が使われている。

5. 撮像例

図4(a)に、4.7Tの静磁場において、勾配エコー

法で撮像したイチゴ(とちのおとめ)の最大値投影画像を示す。この画像の元となる3D画像は、TR=200ms、TE=3.5msで取得したが(測定時間3時間40分)、維管束構造が高輝度に描出されるのは、主に果肉の部分の T_2^* が維管束の部分の T_2^* に比べて短いためである。この原因を調べるために撮像したプロトン密度強調画像(TR=600ms、TE=12msの3Dスピネコー画像)を図4(b)に示す。このように、イチゴは、porousな構造をしており、これにより局所的磁場変化が大きく、このため T_2^* が短縮しているものと考えられる。このようなporousな構造は、多くの果実で見られ、リンゴの高磁場MR撮像が難しい現象も、これと同様の原因である。

さて、図5に、図4(b)で撮像した3D画像のk-power plotを示す。このように、このプロットには、ノイズフロアが見られず、また、 2000m^{-1} ($500\ \mu\text{m}$)の部分に、屈曲が見られ、これはporousな構造を反映しているものと思われる。なお、このNMR信号のDRは76dB以上あるため、さらに小さな画素サイズ($\sim 60\ \mu\text{m}$)³での撮像も可能と思われるが、エリアジングなしに撮像を行うためには、 512^3 以上のマトリクスでのデータ収集が必須となる。

図6に示すのは、静磁場強度4.7Tにおいて、直径12.5mmのRFコイルを用いて撮像したリンゴの種の断層画像と、そのk-power plotである。このように、この試料では、RFコイルなどからの熱雑音に起因するノイズフロアが明瞭に観測される。ところが、 k 空間でカットオフ周波数(10000~

30000 m⁻¹)を設定して、その球内のNMR信号だけをを用いた画像を作成すると、ほぼノイズフロアに達した周波数(10000 m⁻¹)よりも、さらに2倍程度の周波数まで使用しないと空間分解能に悪影響があることが、図6の左に示した画像から明瞭に示される。上記の性質は、実空間における分解能の規準であるRose criterionをk空間で解釈したものに対応している^[7]。

6. むすび

既存のNMR分光計を用いてMRIを実施することを検討している研究者や、新規にMRIの研究テーマを始めることを検討している研究者などに必要な知識を解説した。NMR分光とMRIは、現

在、別々のSocietyを形成しているが、それを乗り越える視点が、今後必要となるのではないかと考えている。

参考文献

[1] Kumar, A., Welte, D., Ernst, R.R. (1975) NMR Fourier Zeugmatography. *J. Magn. Reson.* **18**, 69-83.
 [2] Ljunggren, S. (1983) A Simple Graphical Representation of Fourier-based Imaging Methods. *J. Magn. Reson.* **54**, 338-343.
 [3] Brown, T.R., Kincaid, B.M., Ugurbil, K. (1982) NMR chemical-shift imaging in 3 dimensions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 3523-3526.
 [4] Kose K, Haishi T, Handa S. (2009) Applications of permanent-magnet compact MRI systems. pp365-379, Wiley-VCH, Weinheim.

[5] Fuderer, M. (1988) The information content of MR images. *IEEE Trans. Med. Imaging* **7**, 368-380.
 [6] Behin, R., Bishop, J., Henkelman, R.M. (2005) Dynamic range requirements for MRI, *Concepts*

Magn. Reson. Part B **26B**, 28-35.
 [7] Watts, R., Wang, Y. (2002) k-Space interpretation of the Rose model: noise limitation on the detectable resolution in MRI. *Magn. Reson. Med.* **48**, 550-554.

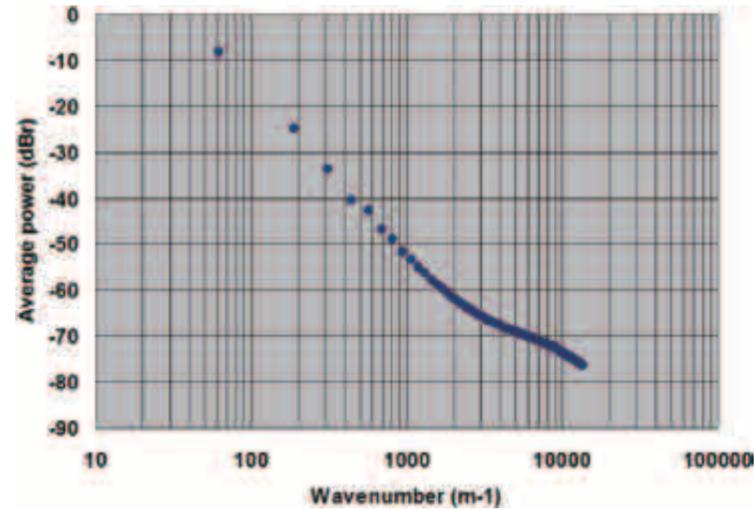


図5 図4 (b) の3D画像のk-power plot。k空間の端においても noise floor はみられない。k=2000 m⁻¹~4000 m⁻¹に直線からのずれがみられ、NMR信号の高周波成分が多く存在することを示している。この信号のDRは、90 dBを超えと思われる。

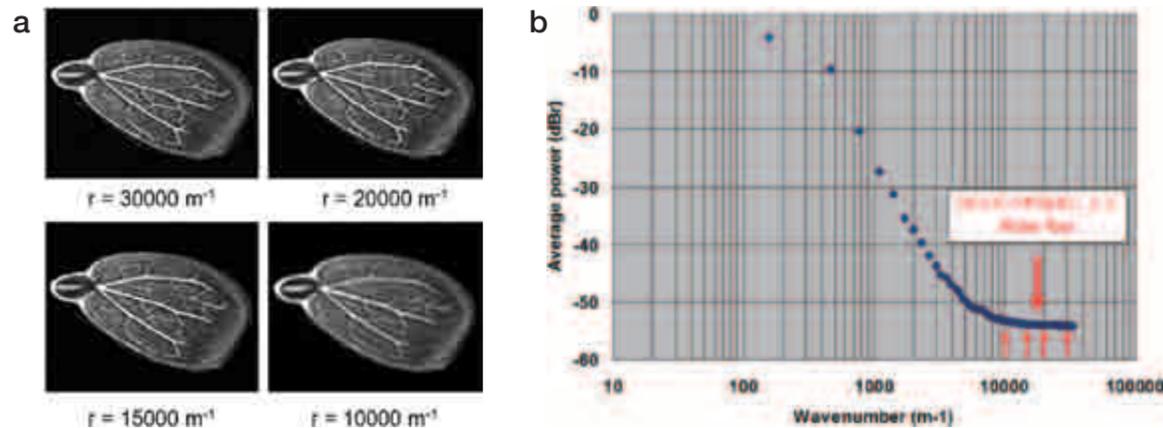


図6 (a) リンゴの種の断層像のカットオフ波数による変化。(b) k-power plot。平均パワーが10000 m⁻¹付近で noise floor に達しても、さらに遠くまでサンプリングしないと、空間分解能に悪影響が見られる。撮像条件は、TR = 200 ms、TE = 12 ms の3D スピンエコー法で撮像。画像視野 (12.8 mm)³、画像マトリクス 256³、画素サイズ (50 μm)³。



巨瀬 勝美 (こせ・かつみ)
 1953年生まれ
 1976年 東京大学理学部物理学科卒業
 1978年 東京大学大学院理学系研究科修士課程物理学専攻修了
 1981年 同博士課程物理学専攻修了
 東京芝浦電気(株) 総合研究所研究員
 1986年 筑波大学理工学系講師
 1994年 同助教授
 2001年 同教授
 2004年 筑波大学大学院数理物質科学研究科教授、現在に至る

実践relaxation dispersion法

サントリー生命科学財団・グループ長

菅瀬 謙治

はじめに

relaxation dispersion法の原理や現象自体は、1960年代に既にCPMGのMであるMeiboomらが報告していましたが^[1]、当時のパルスプログラムでは多スピン系には適用できなかったためあまり広まりませんでした。しかし、1999年にPalmerらが蛋白質の¹⁵Nアミド(2スピン系)に適用できるようにパルスプログラムを改良して以来^[2]、NatureやScienceなどの一流ジャーナルにrelaxation dispersion法を使った成果が怒涛の如く寄せられるようになりました^[3]。このことは、relaxation dispersion法が非常にパワフルな動的構造解析法であることが一番の理由と言えますが、この背景に、多くの研究者が生体高分子の動的な変化に興味を示し始めたことも大きな要因として考えられます。relaxation dispersion法の優れた点は、蛋白質の構造変化の速度を決定できるだけでなく、他の物理化学的手法では見ることができない極めて存在比の低い(>0.5%)状態まで検知できることです。しかも、そのような状態が、実は機能に重要であったりします。最近では、化学シフトから立体構造を決定する計算法と組み合わせて、低存在比状態の立体構造を決定することが1つのホットなトピックスになっています^[4]。

これまでにrelaxation dispersion法の原理に関しては幾度か説明してきましたが^[5-7]、実際のところ、原理は理解できていなくてもrelaxation dispersion実験はできてしまいます。ですから、本稿ではむしろ実践的な話、とくにサンプル調製、NMR測定、データ解析について解説します。なお、NMR測定に関しては、Bruker BioSpin社に特有な内容が一部含まれることをご容赦願います。

サンプル調製

relaxation dispersion法ではS/Nの良いデータが求められますので、高濃度で安定なサンプルが必要となります。蛋白質の性質やクライオプローブ

の有無にも依存しますが、0.5mMで少なくとも4日間は安定なサンプルが欲しいところです。また、本稿では測定が一番容易な¹⁵N標識に話を絞ります。relaxation dispersion実験を計画している場合、帰属などのことは深く考えずに、まずは¹⁵N標識サンプルを調製してrelaxation dispersionをさっさと測定してしまうことをお勧めします。この理由は、relaxation dispersionが先に確認できると、帰属などの後の実験に対するモチベーションが高くなることから期待されるからです。

¹⁵N relaxation dispersion実験を行う上で、考慮に入れるべき安定同位体標識のオプションとして重水素化があります。蛋白質の性質にも依存しますが、アミノ酸数が150以上ある場合は、重水素化して¹H-¹H双極子相互作用による緩和を低減することが望まれます。重水素化するとTROSYバージョン^[8]が使用可能になるだけでなく、¹Hや¹H-¹⁵Nの0量子や2量子のrelaxation dispersionまで測定できるようになります。測定対象のスピンが異なるとrelaxation dispersionで検知される化学シフト差の大きさも異なるため、例えば、¹⁵Nではrelaxation dispersionが観測できなくても、他のスピンではできる可能性があります。

relaxation dispersionは2つの磁場で測定を行う必要がありますが、蛋白質の経時変化を最小にするために、可能であれば、全く同じNMRサンプルを2つ用意し、2つの磁場で同時に測定を開始します。また、バッファー条件にもかなり敏感なため、ロック用のD₂Oが入ったNMRバッファーを多めに調製しておいて、毎回、それを使用するようにします。D₂Oが入ったバッファーは高価ですので、小さめの濃縮器を使って濃縮・希釈を繰り返すことによってバッファー交換します。pHを酸やアルカリで微調整することは勧められません。また、relaxation dispersionの温度依存性を調べる場合、温度に依存してpHが変化してしまうバッファー、例えばトリスバッファー、は使用できません。温度

が変わってもpHがあまり変化しないバッファーには、酢酸ナトリウム、MES、リン酸バッファーなどがあります。

測定中にNMRチューブ内に泡が発生するとrelaxation dispersionカーブが非常に汚くなるため、NMRチューブに詰めたサンプルは、とくにシゲミチューブの場合、しっかりと脱気します。脱気するには、まずはNMRチューブにサンプルを入れて、シゲミチューブの内管を挿入します。この時点でも往々にして泡があるため、まずは、しばらく低温で静置して泡がなくなるのを待ち、その後、ゴムパッキンやパラフィルムなどで内管を固定せずに、デシケーターに入れて真空ラインで引きます。泡が見えてきたら、デシケーターから出して内管を上下して泡を潰します。再度、真空引きして泡が出なくなるまでこの作業を繰り返します。

NMR測定

relaxation dispersion法は、特に温度に敏感です。ですから、液体窒素や液体ヘリウムは実験前夜までに充填して、翌朝から測定を開始するようにします。よくロックレベルが安定すれば温度も安定していると言われるそうですが、実際にはそうではありません。どれくらい待てば良いのかは、マグネットのデザインに依りますので一概には言えませんが、古くて大きいものほど長い時間待った方が良い傾向にあります。また、測定の前には必ずメタノール(またはエチレングリコール)を使って温度校正を行います。Bruker BioSpinの場合、calctempという便利なコマンドがあります。メタノールの1D NMRスペクトルを測定後に、ppと打ってピークピックを行い、その後、calctempと入力すると、質問に答えるだけで現在のプローブ中の温度を求めることができます。

次に実サンプルに変えて測定のセットアップを進めますが、まずはシムをしっかりと最適化します。人によっては1Dグラジエントシミングだけしか行わないようですが、シグナルのS/Nと水消しを良くするためにも3Dグラジエントシミングは必ず実施します。装置によってはrefmapが古くてグラジエントシミングを行うとロックレベルが逆に下がってしまう場合があります。そのような場合は、この機にrefmapを再構築することを強くお勧めします。

続いてパルスの校正を行います。なお、パルス

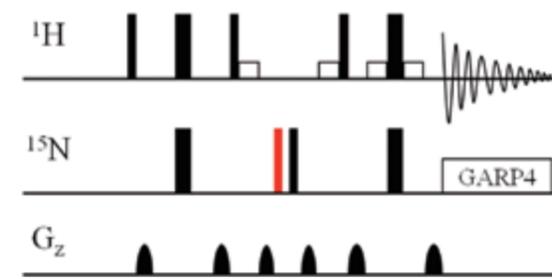


図1 ¹⁵Nパルス校正用1D HSQC

プログラムは、cw CPMG^[9]、または重水素化していればTROSYバージョン^[8]を使用します。研究室によっては¹⁵Nのパルス幅は標準サンプルで決めた値を使用しているようですが、¹⁵Nの180°パルスは実サンプルに対して決める必要があります。パルス校正は1D HSQCで行います。図1の赤いパルスを独立に変更できるようにパルスプログラムを修正し、そのパルスを2倍の長さにしたときにシグナルが完全に消えてしまえば、それが180°パルスになります。この方法はデカップリングの強度を決定するのにも使えます。ただし、この場合には、パルスが弱いオフセットの効果が現れて、¹⁵Nの中心から離れた位置にあるシグナル(例えば、AsnとGlnの側鎖)は下向きに現れます。なお、¹Hのハードパルスの校正の説明は割愛します。

最後に最も厄介な水消しを最適化します。水消しが悪いと、レシーバーゲインをあまり上げられないためS/N良く測定できません。また、水が大きく現れるとベースラインが歪んでしまいます。強いベースライン補正(例えば4次関数)を適用すれば、その歪みは改善されますが、微妙な強度変化を定量化するrelaxation dispersionでは、シグナル強度まで変えてしまう強いベースライン補正は避けたほうが良いです。そのため観測される水シグナルが最小になるようにパラメータを最適化します。そのパラメータとは、パルスプログラムの最後の方にあるグラジエント強度とwater-flip-back pulseです。大抵のrelaxation dispersionのパルスプログラムでは、¹⁵Nを通った¹Hコヒーレンスだけをグラジエントで抽出することによって水を消去します。しかし、本来ならば、水シグナルをdephaseしているはずが、それぞれのグラジエントの強度や長さの微妙な関係で多少の水シグナルがrephaseしてしまいます。3軸グラジエントが使える場合は、それぞれのグラジエントパルスを

適当にx, y, zに振り分けることによって問題は解決しますが、z軸グラジエントしかないクライオプローブの場合は、最後の方に照射するZZ-filterのグラジエント強度を0.1%刻みで変化させて、水が最もrephaseしない強度を探します。また、この際には、同時にwater-flip-back pulseも最適化する必要があります。厄介なことにグラジエント強度に応じて最適なwater-flip-back pulseの強さも変化します。Bruker BioSpinの場合はgsと言うインタラクティブにNMRパラメータを最適化するコマンドがあります(図2左)。このgsを用いてwater-flip-back pulseのパワーを最適化すると水が非常に良く消えてrelaxation dispersionの質も向上します(図2右)。

さて、ここまで来れば測定をしかけられますが、サンプルやNMRに経時変化があると、あたかもrelaxation dispersionがあるかのように見える場合があるため、前から順番に測定を仕掛けるのではなく、マクロを組んで測定順番をシャッフルします(図3上)。また、それぞれの測定の前には、シムを最適化するコマンドtuneを挟みます(図3)。こうすることによって、それぞれの2次元NMR測定はほぼ同じロックレベルから開始されることになります。

データ解析

スペクトルのプロセスにおいて、linear predictionはシグナル強度を変化させてしまうため使用してはいけません。同様に、非線形サンプリングとMEMやMDDなどを組み合わせる技でもシグナル強度の定量性は保証されていません。この点において、最

近、私たちは非線形サンプリングとSIFT法を組み合わせることによって、定量性を保ちつつ測定を短縮することに成功しています^[10]。この手法は、例えば、不安定なサンプルのrelaxation dispersion測定に有効です。

続いてシグナル強度を定量化しますが、ピークトップを中心とした3x3ポイントのボックスを設定し、それぞれの点の高さの和を強度とします。ここまで来ればあとはフィッティングです。最近、幾つかのプログラムがウェブから入手できます。その中でもフリーであることとマニュアルが比較的しっかりしていることからNESSYが使えらると思われれます^[11]。ただし、他のプログラムでもそうですが、フィッティングのアルゴリズムにグリッドサーチを採用しているため、時間がかかり、さらに最小値ではなくて極小値のパラメータセットを与える傾向にあります。私達が使用しているプログラムでは、Monte Carlo minimizationを採用していますが、この場合、非常にフィッティングが早く、また極小値に落ち込むこともあまりありません。現在、他の研究室でも使用できるように準備していますので、準備が整い次第、お知らせします。

さいごに

一般に、実験の原理を知らなくても、とりあえず実験をして、何かしらのポジティブなデータが得られると、その原理を勉強することに対するモチベーションが上がります。本稿では、relaxation dispersionに関して同様なことを期待して最も実践に近い内容を解説しました。実際には、ここに述べた内容以外にも考慮すべきことが数多く存在し

ます。大抵のことは論文に記述してありますので、モチベーションが上がった人が進んで勉強することを期待します。また、質問等があれば遠慮なく筆者までご連絡ください。

参考文献

- [1] Luz, Z., and Meiboom, S., (1963) Nuclear magnetic resonance study of the protolysis of trimethylammonium ion in aqueous solution - order of the reaction with respect to solvent. *J. Chem. Phys.* **39**, 336-370.
- [2] Loria, J. P., Rance, M., and Palmer, A. G., (1999) A relaxation-compensated Carr-Purcell-Meiboom-Gill sequence for characterizing chemical exchange by NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 2331-2332.
- [3] Sugase, K., Dyson, H. J., and Wright, P. E., (2007) Mechanism of coupled folding and binding of an intrinsically disordered protein. *Nature* **447**, 1021-1025.
- [4] Neudecker, P., Robustelli, P., Cavalli, A., Walsh, P., Lundström, P., Zarrine-Afsar, A., Sharpe, S., Vendruscolo, M., Kay, L. E., (2012) Structure of an intermediate state in protein folding and aggregation. *Science* **336**, 362-366.
- [5] 菅瀬 謙治 (2007) 天然変性状態と遭遇複合体. 蛋白質核酸酵素 **52**, 945-951.
- [6] 菅瀬 謙治 (2008) Relaxation Dispersion法の生化学への応用. 生化学 **80**, 754-758.
- [7] 菅瀬 謙治 (2008) 低存在比の状態を解析する新しいNMR技術—R2分散法の開発—. 生物物理 **48**, 279-281.
- [8] Vallurupalli, P., Hansen, D. F., Stollar, E., Meirovitch, E., and Kay, L. E., (2007) Measurement of bond vector orientations in invisible excited states of proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 18473-18477.
- [9] Hansen, D. F., Vallurupalli, P., and Kay, L. E., (2008) An improved ¹⁵N relaxation dispersion experiment for the measurement of millisecond time-scale dynamics in proteins. *J. Phys. Chem. B* **112**, 5898-5904.
- [10] Matsuki, Y., Konuma, T., Fujiwara, T., Sugase, K., (2011) Boosting protein dynamics studies using quantitative nonuniform sampling NMR spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **115**, 13740-13745.
- [11] Bieri M., and Gooley, P. R., (2011) Automated NMR relaxation dispersion data analysis using NESSY. *BMC Bioinformatics* **12**, 421-430.

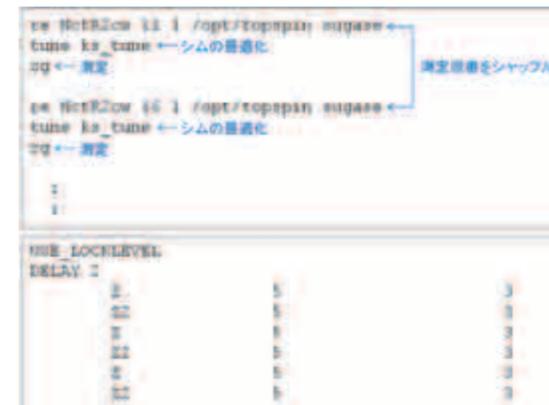


図3 測定用マクロ(上)とtuneパラメーターファイル(下)

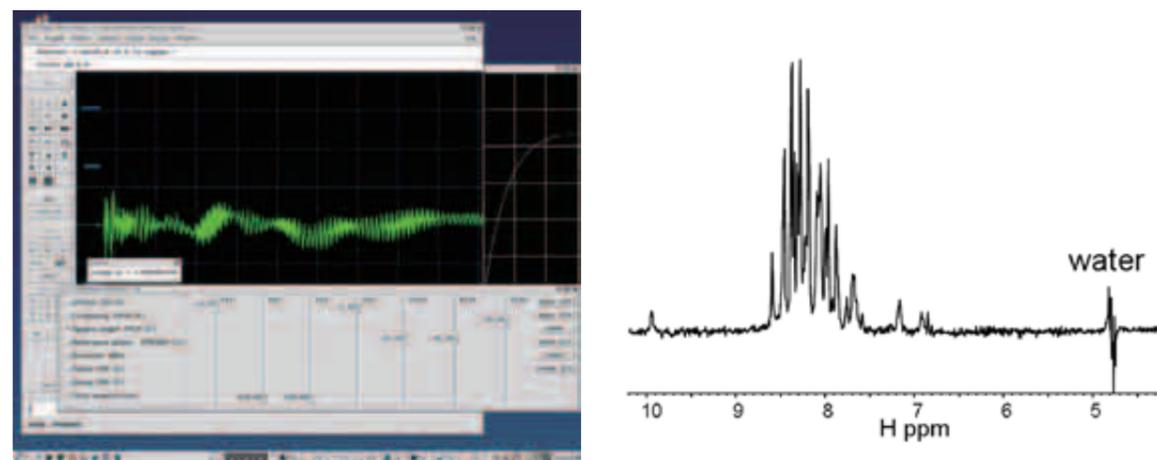


図2 water-flip-back pulseの最適化

(左) gsウインドウ。水のFIDが小さくなるようにwater-flip-back pulseのパワーを最適化する。(右) 水消しが最適化された1D HSQCスペクトル。



菅瀬 謙治 (すがせ・けんじ)

1995年3月 横浜国立大学 工学部 卒業
 1995年4月 横浜国立大学大学院 工学研究科 博士課程前期 入学
 1997年3月 横浜国立大学大学院 工学研究科 博士課程前期 修了
 1997年4月 財団法人サントリー生物有機科学研究所 入所(研究員)
 1999年4月 横浜国立大学大学院 工学研究科 博士課程後期 入学
 2002年4月 横浜国立大学大学院 工学研究科 博士課程後期 修了
 2003年9月 The Scripps Research Institute (Research Associate)
 2005年9月 The Scripps Research Institute (Senior Research Associate)
 2006年9月 財団法人サントリー生物有機科学研究所 帰所(研究員)
 2008年4月 財団法人サントリー生物有機科学研究所(主席研究員)
 2008年9月 財団法人サントリー生物有機科学研究所(NMRグループ長)
 2009年 日本核磁気共鳴学会会員(平成23年-24年、同学会評議員)
 2009年4月 神戸大学大学院 工学研究科(客員准教授)
 2010年1月 社名変更: 公益財団法人サントリー生命科学財団 生物有機科学研究所

Gorterの失敗(上)

京都大学
寺尾 武彦

NMR関係者の間では、オランダの物理学者 Cornelis Jacobus Gorter (1907 ~ 1980) は F. Bloch ら^[1] および E. M. Purcell ら^[2] が凝縮系の NMR に成功する前にその検出を試みて失敗した人として知られている。しかし、それは一面的な見方で、Gorter の実像は「特定分野に籠ることを嫌い、ほとんど物理学全体を活躍の場とする最後で本物の“一般物理学者”(general physicist) の一人として多分最もよく言い表せるだろう^[3]あるいは「もし物理学十種競技というものがあったなら、間違いなく金メダルを取るだろう^[4]と評されるほど、多彩な分野で業績を残した類まれな科学者だった。同時に、NMR のみならず、いくつもの非常に重要な実験を試みて惜しくも不成功に終わった人としても知られている^[5]。たとえ成功しなくても、そのような重要な実験をいくつも思いつき、実行したことは Gorter の能力の高さを示す十分な証左と言える。しかし、Gorter の研究の全体像を語るのは本稿の範囲外なので、ここでは常磁性緩和現象の

発見から NMR 検出の試みを行うに至る経緯、その方法、失敗の原因、他の研究者に与えた影響などについて述べてみたい。

Gorter はライデン大学で W. J. de Haas^[6] の指導のもとで 1932 年に Ph. D を取得した。学位論文のタイトルは“塩類の常磁性特性”だった。学生時代、Gorter は理論家の P. Ehrenfest^[7] に強い影響を受けていた。特に、常磁性体の磁化が Curie-Langevin の法則に従う事実は熱振動に基づく緩和過程の存在を示唆している、という Ehrenfest および W. Lenz の説に感銘を受けた。また、Ehrenfest はラジオ工場の実験室を訪れた後で、このすばらしい技術は基礎科学に非常に役立つようになるかもしれない、と Gorter に言ったという。時代はオランダの国営放送が 1927 年に世界に先駆けて短波 (3 ~ 30 MHz) の試験放送を植民地に向けて開始したばかりだった。そこで、1932 年にハールレムにあるタイラー財団の研究所に職を得た Gorter は、超伝導理論^[8] などの研究を行う一方で当時のラジオ波の先端技術を学んだ。

1936 年に Gorter は、Ehrenfest から受けた二つの示唆を結び付けて、ラジオ波磁場を用いて常磁性緩和の存在を確認する実験を行った^[9]。具体的には、熱量計の中に置かれた各種常磁性ミョウバンにラジオ波を照射しながら試料の温度を測定した。もし緩和過程が存在すれば、常磁性イオンが吸収したラジオ波エネルギーは格子系に散逸し、その結果、試料の温度が上昇するはずだ、と Gorter は考えたのだった。室温で試みたところポジティブな結果が得られたものの、電解質伝導度による発熱のため定量的なデータは得られなかった。この問題を de Haas に相談すると、彼が所長を務めるライデン大学のカメルリング・オネス研究所 (当時唯一とも言える低温施設を備えていた) に来て低温で実験するように勧めた。低温では電解質伝導度による発熱が無視できる上、試料の熱容量が小さく、磁化がはるかに大きくなるた

め、測定精度が大きく改善されるからだった。期待通り、低温 (14 ~ 78 K) でラジオ波照射 (10 ~ 21 MHz) による (試料、周波数、温度に依存した) 温度上昇が観測され、したがって、常磁性体における緩和過程の存在が初めて確認された^[10]。ちなみに、静磁場下 (非共鳴) での測定も行っており、意図せずに磁気共鳴を試みる実験環境が整ってきた。

1936 年にグローニンゲン大学に講師として着任した Gorter は、同僚の理論物理学者 R. de L. Kronig^[11] とともにラジオ波磁場下での常磁性体における吸収と分散の理論を発表した^[12]。この研究を行う中で、強い静磁場中に置かれたスピに対してゼーマン分裂の間隔に等しい周波数をもつラジオ波磁場を静磁場に垂直に照射すると吸収が起こるはずだ、と Gorter は考えるに至った。そこで常磁性緩和の実験と基本的には同じ方法を用いて同年に核スピンを対象に吸収の検出を試みることにした^[13]。ただし、発信器はさらに高出力のものに置き換え、気体温度計に用いた水銀圧力計はもっと素早く反応するフォイル圧力計を自作して付け替えた。実験はやはりカメルリング・オネス研究所で低温 (初期温度 14 K + 0.1°/min のコンスタントな上昇) で行った。カリミョウバン粉末中の ¹H および LiF 粉末中の ⁷Li の共鳴を周波数 20 MHz で検出することにした。強度 1 mT のラジオ波磁場 H_1 を加えながら静磁場 H_0 を非常にゆっくり変化させて、付加的な温度上昇があるかどうか見守った。しかし、測定限界の 0.003°/min を超える上昇は認められず、史上初の NMR の試みは失敗に終わった。

スピン系に吸収される電力は、例えば文献 14 に述べられているように、 $H_1 \rightarrow \infty$ で最大値 $M_0 H_0 / T_1$ に漸近する。この実験では非常に強い H_1 が使われているので、この飽和条件は十分達成していると考えられる。したがって、 T_1 あたり $M_0 H_0$ のエネルギーが格子系に散逸し、その結果、試料の温度は上昇し続ける。問題はその上昇速度が検出可能な大きさであるかどうかである。Gorter は、信号が検出できなかったことから電力 $M_0 H_0 / T_1$ による温度上昇速度が測定限界値 0.003°/min より小さいとして、 T_1 は 10 ms 以上あるであろう、と述べている^[15]。実際の T_1 はそれよりも何桁も長かったであろう。当時は核スピンの T_1 の値はオーダーすら分かっていなかった^[16]。熱測定による NMR 検出を実現するための条件は相当厳しいが、実は NMR を

含めていくつかの共鳴実験で成功例が報告されている。このシリーズの最後で紹介する予定である。

Gorter はこれで磁気共鳴の開発をあきらめた訳ではなかった。その想いを胸に 1937 年の夏を米国で過ごし、帰り (9 月) にコロンビア大学の I. I. Rabi の研究室に寄った^[5]。そこで、方向が空間的に回転している静磁場中に原子線を通させて遷移を引き起こすことにより核磁気能率の符号を決める実験を行っているのを見た。能率の大きさは、空間的に変化する磁場の評価が困難なため、正確には決められない。Gorter は空間的に変化する磁場を定磁場とそれに直交するラジオ波磁場に置き換えれば直ちに NMR の観測に適した装置になることに気が付き、Rabi に提案した。この提案の方が優れていることを確信させることには成功しなかったが、考えてみることを気安く約束してくれて、今後議論を続ける積もりだと理解した。しかし、Rabi らは翌年 1 月に突然、“核磁気能率を測定する新しい方法”と題する最初の分子線 NMR の論文を発表した^[17]。測定方法には Gorter のアイデアが採用されていたが、そのことは謝辞に簡単に述べられていただけだった。Gorter はこの実験の成功に貢献できたことを誇りに思う反面、扱いが軽すぎるのでは、と感じたという^[5]。その 6 年後、Rabi は分子線共鳴法の開発により、ノーベル物理学賞を受賞した。なお、1940 年には Bloch と L. W. Alvarez が、Rabi らとは独立にラジオ波を用いた原理的に類似の方法で中性子線共鳴の実験に成功している^[18]。これらの成功を見て Gorter は凝縮系 NMR の検出を再開する決心をする。

(次号へ続く)

文献および注釈

- [1] Bloch, F., Hansen, W. W., and Packard, M. (1946) *Phys. Rev.*, **69**, 127.
- [2] Purcell, E. M., Torrey, H. C., and Pound, R. V. (1946) *Phys. Rev.*, **69**, 37.
- [3] van der Waals, J. H. (1996) *Encyclopedia of NMR*, **1**, 677.
- [4] Boors, H. A. (1967) *Phys. Today*, **20**, 77.
- [5] Gorter, C. J. (1967) “Bad luck in attempts to make scientific discoveries”, *Phys. Today*, **20**, 76. Gorter は 1966 年に開催された国際低温物理学会で第 5 回 Fritz London 賞を受賞した。受賞者は通常受賞対象となった研究成果について講演することになっているが、Gorter はそれに代えて、どうしていくつもの重要な発見を逃したのかを話した。文献はその講演を纏めたもの。
- [6] de Haas-van Alphen 効果の発見などで知られる。



- [7] Ehrenfest の定理などで知られる。
- [8] 特に、理論家の H. Casimir と提唱した Gorter-Casimir モデルあるいは二流体モデルと呼ばれる超伝導の現象論は有名：Gorter, C. J. and Casimir, H. (1934) *Physica*, **1**, 306.
- [9] Gorter, C. J. (1936) *Physica*, **3**, 503.
- [10] 交流電場を加えた誘電体における誘電損失に対応する現象の発見。
- [11] Kramers-Kronig の関係式などで知られる。
- [12] Gorter, C. J. and Kronig, R. de L. (1936) *Physica*, **3**, 1009.
- [13] Gorter, C. J. (1936) *Physica*, **3**, 995.
- [14] Abragam, A. (1961) "*The Principle of Nuclear Magnetism*", p.48 (訳書では P. 54) Clarendon Press, Oxford.
- [15] Gorter は、Boltzmann 分布があまり乱されないときに吸収が起こる、と (誤って) 考えていて、ネガティブな結果に対する唯一の合理的な説明として、"核スピンによるラジオ波エネルギーの吸収がエネ

ルギー単位間の Boltzmann 分布を乱したため"と述べている。実際には、 H_1 をゼロから大きくしていくと、単位間の占拠数差がゼロに近づいていくが、同時に吸収電力は増加していく。Gorter は、 $M_0 H_0 / T_1$ を単位間の占拠数差がゼロのときに吸収されるエネルギーとして求めたが、Boltzmann 分布があまり乱されない状態で得られる値よりずっと小さい値として認識していたようである。

- [16] 実験データはもちろん皆無で、理論は BPP 理論以前には W. Heitler と E. Teller の論文 ((1936) *Proc. R. Soc. Lond. A*, **155**, 629) しかなかった。彼らは全フォノンスペクトルのうち $\omega = \omega_0$ の周波数をもつ格子フォノンが核スピンと相互作用する過程のみを評価して、反磁性絶縁体の緩和時間は百万年位になると結論している。
- [17] Rabi, I. I., Zacharias, J. R., Millman, S., and Kusch P. (1938) *Phys. Rev.*, **53**, 318.
- [18] Alvarez, L. W. and Bloch, F. (1949) *Phys. Rev.*, **57**, 111.

海外学会報告

若手研究者渡航費助成金について

NMR 学会では、NMR 研究を行う若手研究者が海外で行われる国際会議 (学会・シンポジウム等) で自分の研究成果を発表する場合、あるいは NMR Practical course 等の測定・解析技術の実践を学ぶ学術集会へ出席する場合の渡航費を補助します。NMR 関連会議等の他、生物・化学・物理系、材料・高分子系など基礎科学から応用科学の海外国際会議等の NMR 関連研究発表への渡航助成についても広く募集します。

◆ 応募資格

- ・応募時に会費納入済みの日本核磁気共鳴学会会員であり、35歳以下であること。
- ・大学院生、博士研究員、およびそれに準ずる者。
- ・他の旅費補助金を受けていないこと (本助成金で足りない部分を研究室等で補填するものは可とする)。
- ・所属する研究室において選考を経た後、同じ国際会議に対して1名のみ応募すること。

◆ 応募方法 (詳細は学会ホームページ (<http://www.nmrj.jp/index.php>) をご覧ください。)

1. 応募書類

- ・若手研究者渡航費助成金応募申請書 (様式指定、推薦理由、応募理由を記入のこと)
 - ・略歴 (様式自由)
 - ・学会発表、論文リスト (様式自由)
 - ・参加予定の国際会議の発表要旨
- 以上の書類を電子メールに添付 (PDF 形式あるいは Word 形式) して送付すること。

2. 応募期間

- 国際会議の開催時期に応じて、年に3回募集を行う。
- (A) 7～10月開催の学会は4月10日～5月31日を募集期間とする。
- (B) 11～2月開催の学会は8月1日～9月15日を募集期間とする。
- (C) 3～6月開催の学会は前年の12月1日～1月15日を募集期間とする。

3. 応募書類送付先

若手研究者渡航費助成金選考委員長 内藤晶 (naito@ynu.ac.jp)

◆ 選考方法

若手研究者渡航費助成金選考委員会において、応募締切日までに受け付けた応募者から A、B、C 各期に若干名の援助金受領者を選考し、各応募締切日から1カ月以内に、その結果を会長名で本人宛て通知します。また受領者は NMR 討論会において賞状をもって顕彰します。採択件数は年間5名程度とします。

◆ 助成額

助成額：1件あたり10万円
助成金の贈呈は参加報告書 (下記参照) 提出後となります。

◆ 報告の義務

援助金受領者は参加した国際会議等の参加報告書 (書式は NMR ニュースレターの投稿規定に従うこと) を帰国後1ヶ月以内に選考委員長宛に提出してください。NMR ニュースレターおよび学会ホームページで参加報告書を公開します。



寺尾武彦 (てらお・たけひこ)

1966年、京都大学理学部物理学専攻卒業。1971年、京都大学大学院理学研究科物理学第一専攻博士課程単位取得退学。同年、京都産業大学理学部講師。1973年、京都大学理学博士。1975年、京都大学理学部 (化学科) 講師。1983年、同助教授。1989年、同教授。1987年、カリフォルニア大学パークレー校招聘教授。1995年、京都大学大学院理学研究科教授。2005年、定年退職、京都大学名誉教授。同年、日本電子 (2011年より JEOL RESONANCE) 株式会社技術顧問。2002年、日本核磁気共鳴学会会員 (2002-2008 同学会理事、2007-2008 同学会副会長)。2008年、ISMAR fellow。2011年、日本核磁気共鳴学会名誉会員。

◆過去の助成金採択者

平成23年度7月～10月開催の学会に参加した助成金採択者

田制侑悟 横浜国立大学大学院 博士前期課程2年 第4回 AP NMR Symposiumに参加

平成24年3月～6月開催の学会に参加した助成金採択者

玉田大輝 筑波大学大学院数理物質科学研究科 博士後期課程1年 ISMRM2012に参加

平成24年7月～10月開催の学会に参加した助成金採択者

小松功典 横浜市立大学大学院 博士前期課程2年 EUROMAR2012に参加

植草義徳 自然科学研究機構 博士研究員 ICS2012に参加

小笠広起 東京大学大学院薬学系研究科 博士後期課程2年 ICMRBS2012に参加

小沼剛 サントリー生物有機化学研究所 博士研究員 ICMRBS2012に参加

北沢創一郎 立命館大学大学院理工学研究科 博士後期課程2年 ICMRBS2012に参加

宮佐亮太 横浜国立大学大学院 博士前期課程2年 ICRP2012に参加

以上採択者の海外学会参加報告書は次ページから掲載されています。

若手研究者渡航費助成金選考委員
内藤 晶、高橋栄夫

海外学会報告

平成23年度第2回若手研究者渡航助成による
“The 4th Asia-Pacific NMR symposium”
参加報告書

横浜国立大学 大学院工学府 機能発現工学専攻 博士課程前期2年

田制 侑悟

第2回若手研究者渡航助成を受けて、平成23年10月16日から19日にかけて中国の北京で開催された“The 4th Asia-Pacific NMR symposium”に参加しましたので報告します。Asia-Pacific NMR symposiumは2年に一回行われるアジア、太平洋を中心とした各国のNMRに携わる研究者が集まり、NMRの最新技術やそれを利用した成果を発表する国際会議です。本会議に参加した目的は自身の研究を発表し他の研究者と議論を交わすことと国際会議という場で海外の研究者の講演を聞くことによってNMRに関する知見を深めることでした。

私は本会議では「Microwave heating of liquid crystals under *in-situ* microwave irradiation solid-state NMR」という題目でポスター発表しました。発表内容はマイクロ波照射固体NMR装置の開発とマイクロ波による試料の影響に関するものでした。この研究はNMRプローブの試料管にマイクロ波を加えることによって短時間の温度ジャンプやマイクロ波照射したときの分子の変化を調べたものです。私のような装置開発について発表した方は少

なかった印象を受けました。ポスター発表では幅広い分野の方に興味を持っていただき、これからの研究の指針に関わる重要な意見を聞くことができました。また海外の方と議論できたことも貴重な体験になりました。

研究の対象であり一番興味がある固体NMRを中心に講演を聞きました。Timothy A. Cross先生の固体NMRによる膜タンパク質の構造解析法など私にとって理解が難しい内容もありましたが、海外の研究者達のNMRを用いた様々なユニークな研究に触れることができ、NMRに対してあらゆる可能性を感じることができました。また、NMRについて深く考える良い機会にもなったと思います。

今年度から博士前期課程に在籍していても本助成を受けられることになり、研究者としてまだまだ未熟なところのある私が本渡航助成によってこのような有意義な学会に参加することができました。最後になりましたが、このような機会を与えてくださいました関係者の皆様に心から御礼申し上げます。

国際学会参加レポート

筑波大学大学院 数理物質科学研究科 電子・物理工学専攻

玉田 大輝

オーストラリア、メルボルンで2012/05/05～11に開催されたInternational Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 20th Annual Meetingへの参加報告を行う。本学会では、核磁気共鳴に関する医学、生物学及び工学的なトピックスに関して議論が行われる。本レポートでは、今年のISMRMのテーマ、個人的に注目した発表、及び自身の発表についてのレポートを記す。

今年のテーマ (Compressed Sensing)

今年のISMRMのテーマの一つとして、Compressed Sensing (CS) を挙げることができる。CSは、通常の再構成の際に必要な計測データに比べ、極端に少ないデータのみを用いて画像を再構成する手法である。この手法をMRIに適用することで、今までよりも少ないスキャンでMR画像を得ることが可能になり、撮像時間の短縮につながる (CS-MRI)。

しかしながら、CS-MRIの実現には、いくつかの問題が存在することが知られている。よく知られている問題としては、サンプリングのトラジェクトリの最適化の問題、画像再構成アルゴリズムの効率化の問題や渦電流の補正方法の問題等が存在する。

近年では、これらの問題は解決されつつあり、今回のISMRMにおける一連の発表を聞いて、Compressed Sensingが実用化に近づいていることを実感した。近い将来、CSは標準的な手法になることが予測される。

個人的に注目した発表

他研究グループの口頭発表やポスターを見て、新しい技術や知識を得ることができた。自分自身、シムコイル関係の発表を持っていたため、シムコイルやRFコイルのエンジニアリング関係の発表には特に注目した。約1週間の期間の中で個人的に面白いと思った発表を以下で説明する。

・教育セッション (シムコイル)

本年度のシムコイルの教育セッションはマルチコイルシミング^[1]を提案したChristoph Juchemが担当した。従来のアクティブシミング、パッシブシミングに加え、マルチコイルシミングについての解説が加えられ、マルチコイルシミングの高いポテンシャルを感じた。

・マルチコイル (MC) 理論に基づいたシム・グラディエントシステム^[2]

マルチコイルシミングのアプリケーションとして、リアルタイムのシム・グラディエントシステムが提案された。この手法は、格子状に配置された矩形コイルにそれぞれ独立に電流を流すことによって、勾配磁場を生成すると同時に磁場の不均一性を補正することができる。つまり、このシステムを用いることで、一般的なMRIに搭載されている三軸の勾配磁場と高次のシムコイルの役割を、一層のコイルのみで果たすことができる。

・新しいRFコイルの設計手法 (Twisted Loop Coil)^[3]

シムコイル以外に関して特に興味を持った研究は、Twisted Loop Coilと呼ばれるRFコイルに関する研究報告である。NMRやMRIで広く用いられている磁石は、ソレノイドコイル型の超伝導磁石であるため、RFコイルとして鞍型コイルまたはバードケージコイルが採用されることが多い。鞍型コイルは、sensitivityの低さが大きな問題となっており、高いSNRを実現するために、バードケージコイルが用いられることが多い。しかしながら、バードケージコイルには設計が難しいという問題がある。これらの問題を解決するために、シングルループコイルの形状を工夫し、均一なB1磁場分布、比較的高いsensitivityを実現するRFコイルが提案された。容易に実用性の高いコイルが製作できるという点で極めて興味深いと感じた。

自身の発表に関して

今回の学会では、”Magnetic field shimming of a 2.0 T permanent magnet using a bi-planar single-channel shim coil”^[4]と”Magnetic filed shimming of a high Tc superconducting bulk magnet using a cylindrical single-channel shim coil”^[5]という演題でポスター発表を行った。

前者の発表では、永久磁石の静磁場不均一性を一組のシムコイル (シングルチャンネルシムコイル) で補正する手法を提案した。この発表に対する質問で最も多かったものは、サンプルを入れた際に発生する静磁場の不均一性はどうかというものであった。本演題で発表を行ったシングルチャンネルシムコイルは、磁石自体の静磁場の不均一性を補正する手法であるという趣旨を上手く伝えることができなかったため、この点は反省点である。

また、後者の発表では、高温超伝導バルク磁石^[5]の静磁場シミング手法の提案を行った。この発表では、多くの人が高温超伝導バルク磁石に興味を持っていたため、とても良い機会であったと思う。それと同時に、何人かの方には研究に関して様々なアドバイスを頂いた。今後の研究に役

立てたい。

まとめ

ISMRMに参加して、MRI研究のアクティビティの高さを感じた。今年のISMRMでは、新しい発見が多く、非常に楽しい一週間であった。特に、Compressed Sensing関係の発表は大変興味深く、自分の研究にもぜひ取り入れたいと感じた。本学会で得られた知識を今の自分の研究に役立てたいと思う。このような機会を与えてくださった核磁気共鳴学会関係者の方々に深く感謝する次第である。

参考文献

- [1] Juchem, C., et al., J Magn Reson 204(2010)281-289.
- [2] Wintzheimer, S., et al., Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 20 (2012) 2602.
- [3] Loew, W., et al., Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 20 (2012) 2623.
- [4] Tamada, D., et al., Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 20 (2012) 2579.
- [5] Tamada, D., et al., Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 20 (2012) 2578.
- [6] Ogawa, K., et al., Appl. Phys. Lett. 98 (2011) 234101.

日本核磁気共鳴学会「若手研究者渡航費助成金」 XXVth ICMRBS 参加報告書

(公財) サントリー生命科学財団生物有機科学研究所博士客員研究員

小沼 剛

この度、平成24年度第1回若手渡航費助成の支援を受け、8月19から24日にかけてリヨン（フランス）で開催されたXXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS) に参加しました。リヨンの夏は平均気温が27度で比較的過ごしやすい地域と思っておりましたが、残念ながら私の住む大阪とほとんど違いが感じられないほどの猛暑でした。一方、食事では大阪との違いを感じられました。パリに次ぐフランス第二の都市であるリyonは「美食の都」と呼ばれ、フランス各地の食文化の影響を受けることで幅広く発展した料理は日本人にもうける料理がたくさんありました。大衆食堂の総称であるブションでは地元庶民の味をワインと共にたくさん堪能することができました。学会は、街の中心から少し離れた場所にある現代建築のシティインターナショナル複合施設で行われました。その会場近辺には多くのレストランやカフェが立ち並び、自然豊かな公園とローヌ川が隣接した最高のロケーションでした。

本学会では世界各国のNMR研究者が会し、100を超える口頭発表と600近いポスター発表が行われました。多くの発表を聞く中で私が感じたことは、生体内で数十kDaにも及ぶ高分子量タンパク質を対象としたチャレンジングな研究が意外に多かったことです。この様な非常に高分子量のタンパク質の分子機構を解明する研究では、メチルTROSY法や特異的ラベル化法が用いられており、さらにNMR以外の実験手法を組み合わせで考察されていました。Arthur Palmer博士は中温菌由来と高温菌由来で構造が似ているリボヌクレアーゼHの緩和測定を行い、さらにSAXSやMDの結果からそれぞれのタンパク質の酵素活性において構造揺らぎの違いを議論されていました。またLewis Kay博士の超高分子量体であるプロテアソームの分子機構の解明において、変異体の化学シフトだけから議論を展開されており、R2 dispersionのデータが全く出てこなかったことが逆に印象的でした。タンパク質のダイ



リヨンのブションにて

ナミクスは重要な情報ではありますが、それだけにこだわることなく研究目的に合わせた最善の実験手法を適用するという、研究において当たり前ではあるが、最も重要な事を再認しました。

ポスターセッションにおいて、「Elucidation of the DNA-binding dynamics of the transcription factor Oct3/4 POU homeodomain」というタイトルで発表を行いました。転写因子であるOct3/4のホメオドメインがターゲットとなる塩基配列をどの様に探索し、結合するのかを解明した研究です。ホメオドメインとDNAとの相互作用を解析するために、DNA滴定を行い、それによるホメオドメインの化学シフト変化をMcConnell方程式を用いて定量解析を行いました。多くの研究者との議論において、本研究で用いた化学シフト変化の解析方法における妥当性を理解してもらえかが重要なポイントとなりました。まだまだ本解析方法に納得してもらうにはデータが不十分であることがわかり、今後行うべき実験が明らかとなりました。また様々な研究者と直接情報交換することで最新の知見や有益な情報を得たことは、これからの研究に繋がる非常に有意義なポスターセッションであったと思います。

最後に、学会参加支援をして下さった故京極好正名誉教授、故阿久津政明氏、御家族の皆様、そして日本核磁気共鳴学会関係者の方々に、深く感謝致します。

ニュースレター掲載日：2012年9月5日

若手研究者渡航費助成金による XXVth ICMRBS 参加報告書

東京大学大学院 薬学系研究科 生命物理化学教室 博士後期課程2年

小笠 広起

私は、この度、平成24年度第1回若手渡航助成金を賜り、8月19日～24日に、フランス・リヨンにて開催された、XXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS) に参加いたしました。リyonは、ユネスコ世界文化遺産に登録された歴史的建造物とモダンなデザインの建築物が共存する美しい街でした。学会期間中は晴天に恵まれて少し暑いぐらいでしたが会場内は涼しく、美味しい食事や手厚いおもてなしもいただき、非常に楽しく時間を過ごせました。21時頃まで日が沈まないため、口頭発表を聞いているとついつい時間が経つのを忘れてしまい、一日があっという間に過ぎていくように感じました。

私は、Dynamicsのセッションにて、「Elucidation of the transient interaction between ubiquitin and yeast ubiquitin hydrolase」という題目で、ポスター発表を行いました。常磁性緩和促進効果(PRE)を利用して、タンパク質の複合体形成段階に過渡的に形成される相互作用を明らかにしたという内容です。Claudio Luchinat先生をはじめとする、PREを専門とする方々や、ユビキチンのダイナミクスを解析している方々など、実に多くの方に足を運んでいただきました。現在、私は、提唱している相互作用モデルの妥当性を検証するとともに、より定量的かつ精密に解析することを試みており、今後行うべき実験計画などについて貴重なご意見を賜ることができました。

近年、均一な状態の立体構造を決定する従来の構造生物学では解析が困難な、過渡的複合体の重要性が認識され、解明が盛んに試みられていることと存じます。今回のICMRBSでは、さらに、「conformational selection」、「induced fit」といった、反応機構のより詳細な議論にまで焦点が当たったように感じました。

実際、Dynamicsのセッションは、Protein-Protein interactionのセッションに続いて二番目に多くの

数のポスターが発表されていました。ダイナミクス解析を行っているNMR手法としては、CPMG relaxation dispersion法が最も多く発表されていました。さらに、R1 ρ relaxation dispersion, PRE, RDC, CCR, PCSといった手法を利用した発表も多かったと記憶しています。

今回は、Christian Griesinger先生のグループからダイナミクス解析の発表が多くありましたが、なかでも多くの注目を浴びていた発表は、先生ご自身がポスター発表された、supra- τc の運動性解析を可能とする手法の発表であったと思います。

近年、主にユビキチンを対象としたダイナミクス解析により、「conformational selection」による分子認識機構は、supra- τc と呼ばれるns～50 μs の協同的な運動性が重要であることが明らかとなり、関心が高まっています。そのようなダイナミクスを直接観測し、「conformational selection」、「induced fit」という反応機構を定量的に解析できる手法として、relaxation dispersion法が注目されていますが、技術的な問題から50 μs より速いタイムスケールの運動性解析は困難でした。

そこで、cryo-probehead (Bruker QCI) を使用したオンレゾナンスR1 ρ relaxation dispersionにより、高周波数スピンロックを可能とし、 ^{15}N , ^{13}C , 1H 核それぞれにおいて、25, 10, 4 μs の運動性まで解析できるようになったという内容を報告されました (JMR, (2012) 221, 1)。

私の研究においてPREにより観測している過渡的複合体も、ms～supra- τc のタイムスケールで形成している可能性が高く、relaxation dispersion法を利用することで検出できると期待されています。

次回のICMRBSは、2014年、アメリカ合衆国テキサス州ダラスにて開催されることはご存じの方も多いかと思いますが、先日、次々回のICMRBSが、2016年、日本の京都にて開催されることが正式に決定されました。日本での開催は、1978年(奈

ニュースレター掲載日：2012年8月30日

良)、1998年(東京)以来の三回目となります。私が次に参加する時は、今回のICMRBSでの学びを活かして、より良い発表ができるようにしたいと考えています。

最後になりますが、今回、ICMRBSへの参加をご支援して下さいました、日本核磁気共鳴学会関係者の皆様に深く御礼申し上げます。有難うございました。

海外学会報告

若手研究者渡航費助成金 (ICMRBS)
参加報告書

立命館大学 薬学部 生体分子構造学研究室所属
立命館大学 理工学研究科 博士課程後期課程2回生

北沢 創一郎

この度、第一回若手研究者渡航助成金の支援を受け、XXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS2012)へ参加しました。ICMRBS2012は8月19日から8月24日にかけて、リヨン(フランス)で行われ、開催期間中に約130件の口頭発表と500件以上のポスター発表が行われました。リヨンは連日30℃を超える暑さで、一年で最も暑い時期でした。冷房の効いた会場でしたが、外気に負けないくらい熱気にあふれ、白熱した議論が交わされていました。

本学会の溶液NMRの分野では、蛋白質と核酸・蛋白質の相互作用、蛋白質のダイナミクス、膜蛋白質、天然変性蛋白質や巨大蛋白質など、従来では解析が困難なターゲットに対して同位体ラベル手法などの新たなアプローチ方法や解析結果などの発表が数多く見受けられ、これらの分野が注目を浴びていることがうかがえました。

近年、蛋白質のダイナミクスの分野では、横緩和分散法による存在比が極端に低い状態の観測が注目されています。蛋白質の構造転移は、蛋白質の認識や機能に重要であると、従来から考えられてきましたが、天然状態よりわずかにギブス自由エネルギーの大きい高エネルギー状態は存在比が低い状態のため観測が困難でした。横緩和分散法はこの

高エネルギー状態の化学シフト・存在比・構造転移の速度を見積もることができる非常にパワフルな方法です。しかし、この方法では高エネルギー状態の距離情報・角度情報をえることができないため、従来の方法では立体構造を決定することは困難でした。Lewis Kay博士のグループであるGuillaume Bouvignies博士は、化学シフトから立体構造を予測するプログラムCS-ROSETTAを利用することで、この弱点を克服し、T4 lysozymeの高エネルギー状態の立体構造モデルを報告していました(Bouvignies et al., nature 2011)。

Stephan Grzesiek博士の研究は、私が最も興味を抱いた発表でした。セラミクスを用いた高圧NMR法により、Ubiquitinを対象に水素結合を介した $^3J_{NC}$ の測定を行いました。高圧力下では、高エネルギー状態への構造転移にともない、ubiquitinの水素結合の一部が、切断されていることを示していました。さらに、低温変性状態(-20℃、2000気圧)に対して、変性状態由来のNMR信号の帰属を行い、化学シフトインデックスにより、天然状態より長い α -helixを形成し、過去に報告されたアルコール中での変性構造に類似していることを報告していました。

私は、“NOE-derived solution structure of the high-energy open conformer N₂ of ubiquitin”というタイトルで、ubiquitinの高圧力下で安定化される機能的な高エネルギー状態のモデル変異体の合理的設計とダイナミクス・構造安定性と立体構造の解析結果をポスターで発表させて頂きました。発表中は、高圧力NMRに興味のある先生やユビキチンに関わっている先生などを中心に足を運んでいただきました。現在、私はこの変異体の機能について研究を行うことで、高エネルギー状態の機能的な意義を解明しようとしております。ポスターでもその点について鋭く指摘され、数多くのアドバイスを頂くことができました。



ニュースレター掲載日：2012年9月5日

また、開催期間中に次々回である2016年のICMRBSは京都で行われることが正式に発表されました。より良い発表をできるように、今回の経験を生かし頑張っていきたいと思えます。

最後になりますが、基金の設立にご尽力くださ

いました故京極好正先生と故阿久津政明様ならびにその家族の皆様、株式会社エルエイシステムズ様、今回、ICMRBS2012への参加をご支援くださいました、日本核磁気共鳴学会関係者の皆様に心よりの御礼申し上げます。

海外学会報告

日本核磁気共鳴学会「若手研究者渡航費助成金」 International Carbohydrate Symposium (ICS2012) 参加報告書

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 博士研究員

植草 義徳

この度、平成24年度第1回若手研究者渡航費助成の支援を受け、7月22日から27日にかけてスペイン(マドリッド)で開催された26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012)に参加しました。この学会は、複合糖質について研究を遂行している世界中の研究者が隔年で一堂に会して成果を発表する国際学会です。今回はNMRを用いて糖鎖科学分野の先駆的な研究を行っているCentro de Investigaciones BiológicasのJesús Jiménez-Barbero博士が世話人であったため、各国からNMRを利用して糖鎖研究を精力的に行っているグループが多数参加していました。学会全体では、200件近くの口頭発表と600件ものポスター発表が6日間に渡って執り行われ、スペインの暑い気候に負けないくらい白熱した議論が連日飛び交っていました。糖鎖構造生物学関連では、いかにして不均一かつ大きな揺らぎを有する糖鎖構造を明らかにするかということがホットなテーマであり、私たちのグループを含め、常磁性効果を利用したNMR研究が数多く見受けられました。また、様々な糖構成原子間のスピカップリングを糖鎖のconformational probeとして利用するために系統的に解析されているノートルダム大学のAnthony S. Serianni博士の発表は印象的でした。分子動力学計算を用いて糖質の動的構造を特徴づけようと試

みているグループの発表もあり、近年の計算科学の急速な発展がもたらす研究結果には目を見張るものがありました。

報告者は、“NMR analysis of specific carbohydrate-carbohydrate interaction between gangliosides”という題目で口頭発表を行いました。本発表では、これまで生化学的手法によってのみその存在が示唆されていた糖鎖間相互作用について、原子レベルでの観測に世界で初めて成功したことを報告しました。弱い分子間相互作用を捉えることが可能なNMRの特性を生かしたこの研究結果は、糖鎖超分子クラスターの構造やその形成機構に関する物理化学的実体を理解する糸口になると期待され、糖鎖科学研究者に大きなインパクトを与えることができたと思えます。質疑応答時間では、(幸いにも?)次演者の講演が中止になったため、非常に多くの質問やコメントを会場から頂き、今後の研究に繋がるような有意義な議論を行うことができました。また、第一線で活躍する研究者と直接情報交換して最新の知見や有益な情報を取得する毎日であり、長いようであつという間の学会期間でした。

最後に、本学会への参加をご支援下さりました核磁気共鳴学会関係者の皆様に深く感謝致します。

EUROMAR2012参加報告書

横浜市立大学大学院 博士前期課程2年

小松 功典

第一回若手研究者渡航費助成金の支援を受け2012年7月1日から5日にアイルランドのダブリン開催されたEUROMAR 2012に参加しました。故京極好正先生と故阿久津政明様ならびにご家族の皆様、株式会社エルエイシステムズ、日本核磁気共鳴学会朝倉哲郎会長をはじめ関係者の皆様にご心より御礼申し上げます。

本会で印象的だったのは、固体NMRの発展でした。本会での受賞講演は、Galina Debelouchina先生によるDNP (Dynamic Nuclear Polarization) 法を使ったアミロイド繊維の固体NMRでの構造解析、およびLyndon Emsley先生による固体NMR法による一連の結晶解析であり、いずれも固体NMR絡みでした。Emsley先生のグループでは、DNP法による表面選択的計測法 (DNP SENS) に取り組んでおり、これに関しては、Anne Lesage先生が3日目に詳細をお話されました。現在では、NMRメーカーから固体DNP分光システムが市販されており、DNP法による固体NMRの高感度化は、NMRユーザーにとって身近な存在となっています。

超高速MAS、重水素標識、デカップリング、およびリカップリングパルスの改良による高感度・高分解能化が数多く議論されていました。例えば、西山祐介先生は0.75mmのMASローターを用いて110kHzもの高速MAS下での¹H検出¹⁴N-HMQCを報告しました。高速MASの利点として高分解能および高感度で¹H検出できることが挙げられます。同様に、ごく少量のサンプルで計測ができることは、タンパク質など大量調製が大仕事になっている分野では大きな利点となるでしょう。

DNP法を含めて“hyperpolarization”は本会

のキーワードのひとつでした。例えば、超偏極¹²⁹XeはMRIの感度向上において使われてきました。また本会では、PHIP (Para-Hydrogen Induced Polarization) およびSABRE (Signal Amplification By Reversible Exchange) と呼ばれるパラ水素を介した偏極技術に関する発表が数件ありました。これらの技術は、核磁気共鳴においてしばしば問題になる感度の低さを克服する技術であり、NMRユーザーとしては、今後の動向が非常に気になります。

報告者は“Structural biological studies of plant cell-wall: resonance assignment of ¹³C labeled lignocellulose by solution and solid-state NMR”という題目でポスター発表をおこないました。内容は、木質バイオマスの主要構成成分であるリグノセルロースの溶液および固体NMR法による解析です。リグノセルロースは、セルロース、ヘミセルロース、およびリグニンから構成される超分子です。混合物解析という点に興味を持っていただき、特に、固体NMRの計測において、NQSによってセルロースなどの非4級炭素をサプレスし、DARRによって残った4級炭素とのリカップリングを検出することで、各構成成分に単離精製することなく、ヘミセルロースやリグニンのシグナルを検出する方法に興味を持っていただきました。リグノセルロースの超分子構造を紐解くには、今後、固体NMR法による解析が重要になると報告者は考えています。本会で集めた固体NMRの高感度・高分解能化の情報を研究に取り入れるべく、詳細を追跡していきたいと考えています。

最後に、貴重な機会を与えてくださいました日本核磁気共鳴学会に重ねて御礼申し上げます。

固体NMRにおける超高速試料回転の開発と感度向上への寄与

株式会社JEOL RESONANCE 技術部

西山 裕介

1. 概要

外径0.75mmのMASシステムにより110kHzにまでの高速の試料回転が可能になった。この試料回転のハードウェアおよびNMR測定への応用を紹介する。

2. 初めに

1950年代にAndrewとLoweにより独立に提案されたmagic angle spinning (MAS)^[1,2]は、固体NMRと言えばMASと言っても過言ではないほど広く用いられる手法となっている。MASは、固体NMRスペクトルをブロードニングさせる2階のテンソルの異方性部分を時間平均により覆い隠してくれる。これにより固体試料のNMRスペクトルの飛躍的な高分解能化・高感度化が実現した。MASにおいては試料回転速度も重要な要素である。高磁場での¹³Cのように異方性部分が大きいときや、¹Hのネットワークのように異なる時間に対して可換でない相互作用が存在するときには、高速の試料回転が要求される。そのため、50年以上の歴史を持つMASであるが、現在でも最先端の技術開発がおこなわれている非常にホットなトピックであり続けている^[3]。本稿では、近年の超高速MASの開発及びNMRスペクトルへの寄与に関して紹介する。

3. 超高速 MAS の開発

MAS速度は様々な要因により制限されている。



図1 110kHzの超高速回転を可能とする外径0.75mmの試料管

高速MASが発生する非常に大きい遠心力は、サンプル管やキャップなどを物理的に破壊してしまう。サンプル管表面と周辺の空気との速度差は音速近くに達し(多くの場合音速の0.7~0.8倍程度)、非常に大きい摩擦を発生させる。タービンの発生する回転トルクがこの摩擦に打ち勝つことができなければ、回転数を維持することができなくなる。

これらの問題を克服し、高速の試料回転を実現するために小径の試料管が開発され続けている。同じ試料回転数であっても小径の試料管は大径のものに比べて遠心力および空気との摩擦が小さくなり、容易に高速回転が実現する。我々は2010年に外径1mmの試料管を用いて当時世界最高速^[4,5]となる80kHzの試料回転を実現した^[6,7,8]。さらに本年2012年、さらに小径の0.75mmの試料管を用いて100kHzの壁を破り現在の世界記録となる110kHzの試料回転を実現した^[9]。(図1)

小型の試料回転システムの実現には、回転トルクを与えるタービンの最適化、サンプル管を空中で支えるベアリング技術の開発、固有振動数に配慮して設計した試料管などの設計技術の進歩が大きく寄与している。特に近年可能になった詳細な流体シミュレーションは適切な設計を行うに当たって非常に有用だった。このような設計技術に加えて、微細かつ精密な加工技術により超高速の試料回転を実現した。

図2に試料回転システムの概略を示す。回転システムそのものはコンベンショナルなものを用いており、4mmなどの一般的な試料回転システムと同じである。サンプル管は二つのラジアルベアリングにより試料回転軸に対して中心方向に正しい位置に保持される。また一つのスラストベアリングにより試料回転軸に沿った方向での位置合わせが行われる。このようにして正しい位置に保持されたサンプル管のタービンに高圧エアを吹きかけることにより回転が実現する。高圧とはいえ、一般の固体NMRシステムにより供給される500kPa以

受領日: 2012年8月29日 受理日: 2012年9月6日 編集委員: 中澤靖元

下で最高速が実現するよう設計されている。また空気のみならず、窒素ガスでの回転も可能である。この回転システムを用いた試料回転の結果を以下に示す。試料管保持機構(ベアリングシステム)と回転機構(タービン)が独立しているため、非常に低回転から高回転まであらゆる試料回転領域において安定した試料回転が実現した。110 kHzの試料回転時には、表面速度は933 km/hに達する。空気との摩擦熱によりサンプルは室温から50°C程度加熱される。熱に敏感な試料を測定するためにサンプル管を冷却するエアを別系統から印加する機構を設けた。最高速の試料回転においてもサンプル温度を0°C程度に維持することが可能になった。

小径の試料管は高速回転だけでなく、小径のサンプルコイルが使えるというメリットがある。これは、非常に強い B_1 磁場を実現するとともに微量試料の高感度測定にも有用である^[10-12]。内径1 mm以下のマイクロコイルと呼ばれるサンプルコイルを用いることにより、少ない電流で非常に強い B_1 磁場を得ることに成功した。100 Wの入力での ^1H のrf磁場強度は600 kHzを超える。90度パルス幅に

換算するとおおよそ400 nsに相当する。このような非常に強いrf磁場は、四極子核の測定や様々な基礎的なNMR研究に有用である。また、手に入る試料量が限られているときには、このマイクロコイルが有効に働く。0.75 mm MASの試料量は290 nLであるが、試料量が290 nL以下であれば、単位試料量当たりの感度はフィリングファクターが最大化できる0.75 mm MASを使うことによりもっとも高くなる。

4. NMR 測定

^1H NMRは高速の試料回転により大きく影響を受ける一つの測定である。 ^1H NMRスペクトルは ^1H - ^1H homonuclear dipolar interactionの存在のために非常にブロードなスペクトルとして観測される。二つ以上のこの相互作用が一つの核スピンの存在しているとき、相互作用は時間に対して可換でなくなるため、高次の摂動によるブロードニングが残る。2次の摂動によるブロードニングは試料回転速度に反比例するため、高速の試料回転により ^1H NMRスペクトルの先鋭化が期待される^[13,14]。

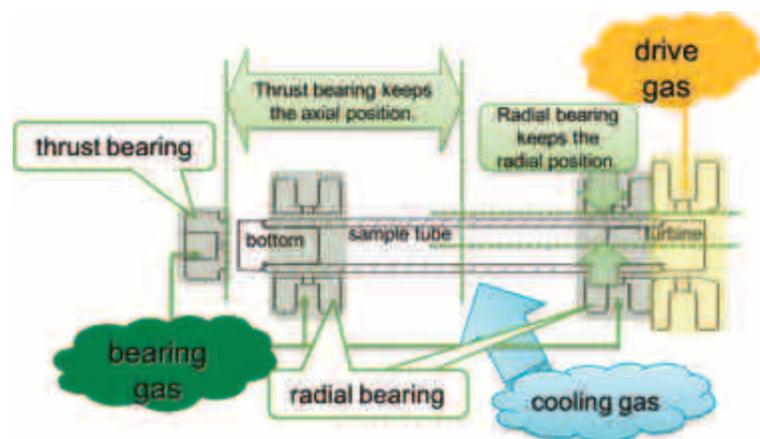


図2 0.75 mm MAS / 1 mm MASの回転システム概略

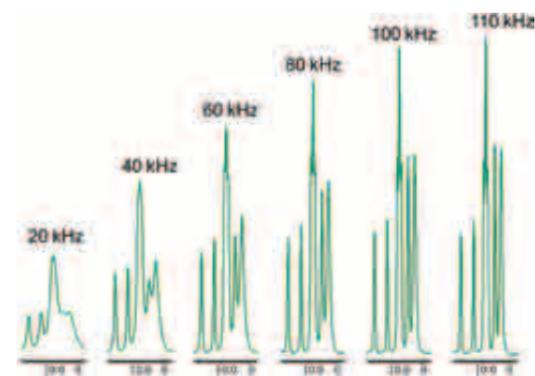


図3 L-histidine 塩酸塩の ^1H MAS NMRスペクトル。14.1 Tの静磁場のもとで観測した

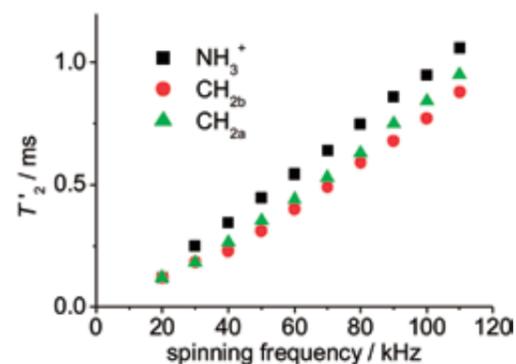


図4 グリシンの ^1H T_2' 。14.1 Tの磁場のもとで観測した

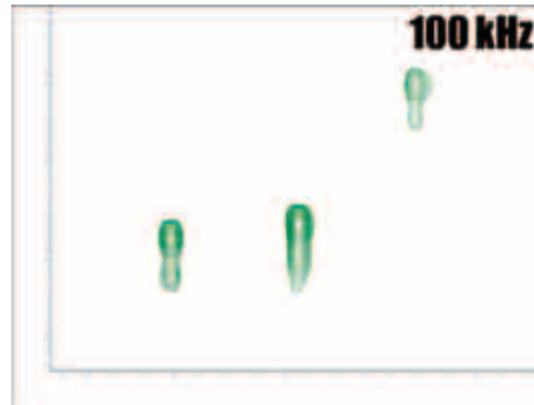


図5 L-Histidine 塩酸塩の ^1H - ^{14}N HMQC測定。100 kHzの試料回転のもとで14.1 Tの静磁場で測定した

図3にL-histidine 塩酸塩の ^1H NMRスペクトルを示す。試料回転の高速化に従い、分解能の向上と感度の向上が観測された。またスピネコーにより観測される ^1H の T_2' 緩和時間は、試料回転に比例して長くなる。図4にグリシンの ^1H T_2' 緩和時間を示す。110 kHzにおいても試料回転に比例して T_2' 緩和時間が長くなっていることが分かる。

我々はこれらの特徴を生かした測定として ^1H - ^{14}N correlation測定を開発した^[6]。図5にL-histidine 塩酸塩の ^1H - ^{14}N HMQCスペクトルを示す。わずか290 nLの微量試料ながら、HMQC測定に要求される最低限の積算回数2回で高感度で測定ができた。G. BodenhausenらおよびZ. Ganにより独立に同時に開発されたHMQCによる ^{14}N 測定は、 ^{14}N 核の高感度・高分解能測定の新しい道を開拓した^[15,16]。しかしながら、改善したものの依然として低い感度や、試料回転速度により決まる狭い ^{14}N 次元のスペクトル幅の問題を抱えていた。我々は高速の試料回転システムを組み合わせることにより、1 mgをはるかに下回る微量の試料(290 nL)であっても数分で ^1H - ^{14}N 2D相関スペクトルを測定できることを示した。高速の試料回転による長い ^1H T_2' 緩和時間はHMQCの感度を飛躍的に向上させる(図6)。さらに高速回転により実現する幅広い ^{14}N 次元のスペクトル幅は、スペクトルの折り返しを防止する。

高速の試料回転のもとで動作する ^1H - ^1H 同種核間双極子相互作用デカップリング法TIMES₀を開発した^[7,8]。高速の試料回転は、 ^1H NMRスペクトルの線幅を大幅に減少させるが、110 kHzの試料回転においても ^1H - ^1H 双極子相互作用は依然として残っている。このブロードニングはwPMLGを代表とする同種核間双極子相互作用デカップリン

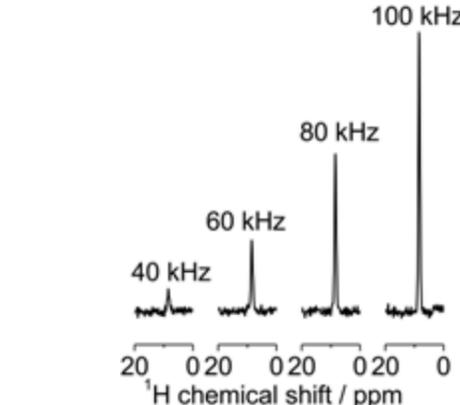


図6 GlycineのHMQCスペクトルの試料回転速度依存性

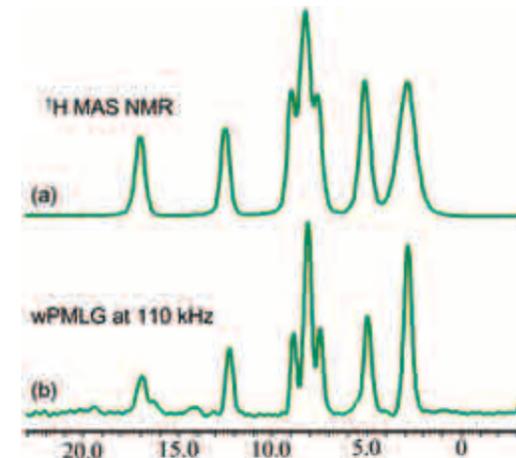


図7 L-histidine 塩酸塩の110 kHzの試料回転のもとでの(a) single pulseによる ^1H MAS NMRスペクトルおよび(b) wPMLGによるスペクトル

グにより抑制することができる^[17,18,19]。wPMLGは65 kHzの高速回転においても動作することが報告されている^[20]。図7に示すように110 kHzにおいてもwPMLGにより高分解能化が観測された。これらの測定法により得られるスペクトルはスケールングファクターにより定義される割合で縮小されることが知られている。通常は0.3~0.5のスケールングファクターとなる(スペクトルが1/2~1/3に圧縮される)ことが多いが、超高速の試料回転においては、スケールングファクターが非常に大きくなることが分かった。110 kHzのwPMLGでは0.90、TIMES₀を用いると80 kHzの試料回転においても0.88のスケールングファクターが得られる。異種核間Jカップリングもスケールングファクターにより縮小されるため、この大きなスケールングファクターは、J-HMQCの磁化移動時間の短縮に大きく寄与し、結果としてHMQCスペクトルの感度向上を実現する(図8)。

高速の試料回転では大きなスケールアップファクターだけでなく、弱いrf磁場強度でのデカップリングも実現する^[8]。図9にlow power TIMES₀およびlow power wPMLGのスペクトルを示す。High power decouplingと同等の分解能が得られた。必要なrf磁場強度は54kHzであり、プローブへの入力はずか1.5Wである。このような弱いrf磁場照射は、生体試料などの熱に敏感な試料の測定に有用である。弱いrf磁場と引き換えに、low power TIMES₀やlow power wPMLGはrf磁場強度の分布に敏感である。そこでhomogeneousなB₀の領域を選択するために励起パルスを90度パルスではなく、810度パルスにすると、分解能を向上させることができる。

5. まとめ

0.75mmの極小径のMASシステムにより、110kHzの超高速の試料回転を実現した。必要な試料量はわずか290nLであり、またマイクロコイルにより600kHzにもおよぶ非常に強い¹H B₁強度を実現した。高速の試料回転により、¹HのT₂'が長くなり、¹H NMRスペクトルの分解能・感度の向上に寄与した。微量試料の¹H-¹⁴N correlationスペクトルの高感度測定を実現した。高速回転のもとで働く¹H-¹H双極子相互作用デカップリングを開発し、J-HMQC測定の高感度化およびlow power homonuclear decouplingを実現した。

6. 謝辞

高速回転MASシステムの開発およびその応用測

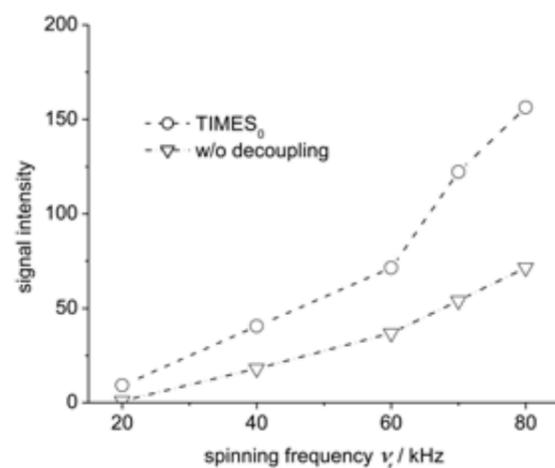


図8 ¹³C, ¹⁵N-L-alanineの¹H-¹³C J-HMQCスペクトル強度の試料回転速度依存性。磁化移動時間に何も照射しない(▽)およびTIMES₀を照射して(○)得たスペクトルを比較した

定に関しお世話になった以下の方々に感謝いたします。

株式会社JEOL RESONANCE: 遠藤由宇生氏、根本貴宏氏、下池田勇一氏、Michal Malon博士、中井利仁博士、樋岡克哉氏、内海博明氏

東京農工大学: 朝倉哲郎教授

株式会社東レリサーチセンター: 三輪優子博士

King Abdullah University of Sciences and Technology: 山内一夫博士

University of Illinois at Chicago: Sudhakar Parthasarathy氏、石井佳誉教授

UCCS (CNRS-8181), University Lille North of France: Xingyu Lu氏、Olivier Lafon教授、Julien Trébosc教授、Aany Sofia Lilly Thankamony氏、Jean-Paul Amoureux教授

National High Magnetic Filed Laboratory: Zhehong Gan博士

Tata Institute of Fundamental Research: P.K. Madhu博士

参考文献

- [1] Andrew, E.R., Bradbury, A., Eades, R.G. (1958) *Nature*, 182, 1659.
- [2] Lowe, I.J. (1959) *Phys. Rev. Lett.*, 2, 285.
- [3] Samoson, A., Tuherm, T., Gan, Z. (2001) *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, 20, 130.
- [4] Endo, Y., Nishiyama, Y., Yamauchi, K., Hioka, K., Asakura, T., (2010) 51th ENC abstract.
- [5] Samoson, A., (2010) 51th ENC abstract.
- [6] Nishiyama, Y., Endo, Y., Nemoto, T., Utsumi, H., Yamauchi, K., Hioka, K., Asakura, T., (2011) *J. Magn. Reson.*, 208, 44.

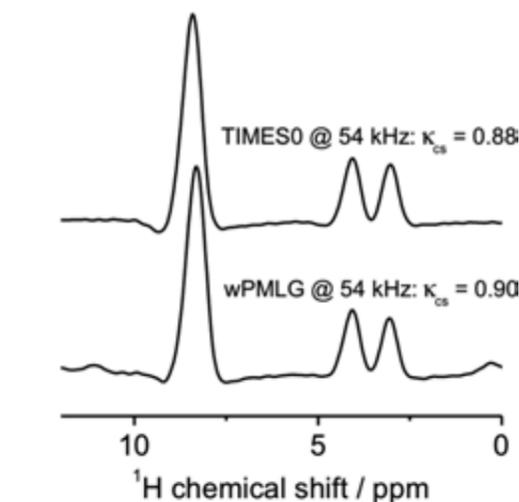


図9 80 kHzの試料回転のもとでのグリシンの¹H low power TIMES₀およびlow power wPMLGスペクトル。54 kHzの¹H rf磁場強度のもとで測定された

- [7] Nishiyama, Y., Lu, Xingyu, Trébosc, J., Lafon, O., Gan, Z., Madhu, P.K., Amoureux, J.-P., (2012) *J. Magn. Reson.* 214, 151.
- [8] Lu, X., Lafon, O., Trébosc, J., Thankamony, A.S.L., Nishiyama, Y., Gan, Z., Madhu, P.K., Amoureux, J.-P., *J. Magn. Reson.* in press.
- [9] Nishiyama, Y., Endo, Y., Nemoto, T., (2012) 53th ENC abstract.
- [10] Yamauchi, K., Asakura, T., (2006) *Chem. Lett.* 35, 426.
- [11] Janssen, H., Brinkmann, A., van Eck, E.R.H., van Bentum, J.M., Kentgens, A.P.M., (2006) *J. Am. Chem. Soc.* 128, 8722.
- [12] Inukai, M., Takeda, K., (2008) *Concept. Magn. Reson.* 33B, 115.
- [13] Brunner, E., Freude, D., Gerstein, B.C., Pfeifer, H., (1990) *J. Magn. Reson.* 90, 90.
- [14] Zorin, V.E., Brown, S.P., Hodgkinson, P., (2006) *J. Chem. Phys.*, 125, 144508.
- [15] Cavadini, S., Lupulescu, A., Antonijevic, S., Bodenhausen, G., (2006) *J. Am. Chem. Soc.* 128, 7706.
- [16] Gan, Z., (2006) *J. Am. Chem. Soc.* 128, 6040.
- [17] Vinogradov, E., Madhu, P.K., Vega, S., (2002) *Chem. Phys. Lett.* 354, 193.
- [18] Yamauchi, K., Kuroki, S., Ando, I., (2002) *J. Mol. Struct.*, 602-603, 9.
- [19] Brown, S.P., (2012) *Solid State Nucl. Magn. Reson.* 41, 1.
- [20] Leskes, M., Madhu, P.K., Vega, S., (2009) *J. Magn. Reson.* 199, 208.



西山 裕介 (にしやま・ゆうすけ)

2002年3月 京都大学大学院理学研究科博士課程 単位取得の上退学
 2002年4月 理化学研究所ゲノムサイエンスセンター 研究員
 2002年5月 博士(理学)取得
 2005年4月 日本核磁気共鳴学会会員
 2007年9月 日本電子株式会社入社
 2009年4月 京都大学化学研究所非常勤講師(兼任・現職)
 2010年4月 分社化により株式会社JEOL RESONANCE 転籍(現職)

NMR装置の安全管理を再考する

ブルカー・バイオスピンKK

山本 昭彦

今日では超電導磁石を利用している分析用のNMR装置は、国内だけで優に二千台を超え、多くの研究施設で日常的に使用されている。この流通により、利用者の裾野が大きく広がったことは喜ばしいことである。一方、このことはNMRのハードに不案内な方の利用や、部屋への出入りの機会が増えたことを意味している。しかし、場合によっては、生命を脅かすまでの危険を伴うものであることは意外に知られていない。NMRの入門書にもそのような危険性や対処法に言及されたものは少なく、すでに頻繁に装置を使うようになった方も、これまでにその危険性を特に意識したことがないかも知れない。昨今、実験室での安全性の確保については、大学、企業を問わず、以前よりも盛んに叫ばれるようになっており、NMR装置についてもその例外ではない。昨年、日本は東日本大震災という未曾有の災害を被り、防災に対する意識は一段と高まった。NMRに携わる者として、安全対策を講じるにも、NMR装置の、どこにどのような危険が潜んでいるかを把握しておくことが肝要である。本稿では、すでに周知の部分を含め、NMR装置が潜在的に持っている危険性を掘り起こし、その安全管理について今一度、考えたい。

NMRメーカーにエンジニアとして勤めている筆者の経験から、想定できる危険性を、生じる可能性の高いと思われる順に挙げる。大怪我や生命の危険があるのは、いずれも超電導磁石関連であるので、それを中心に述べることになる。超電導磁石の基本設計は、商品として流通を始めた1970年台から本質的に変わっておらず、以前と同様な危険性を有している。

- 1) 漏れ磁場による磁性体の引きつけ
- 2) 冷媒による低温やけど
- 3) 冷媒による酸欠
- 4) 大地震の際の倒壊
- 5) 冷媒の閉塞による真空容器の爆発

これらの項目について、順に紹介する。

1) 漏れ磁場による磁性体の引きつけ

NMR装置の頻繁な利用者は、この危険を日々念頭に入れながら行動されていることと思う。また最近では磁場遮蔽型の磁石が増えてきた。それゆえ、実際の磁性体の、磁石への引きつけを経験されていない方が多いと推察する。確かに遮蔽型は、非遮蔽型に比べると、磁性体の引きつけに対する配慮は少なく済む。しかし、遮蔽型と言っても漏れ磁場がないわけではなく、遮蔽効果は容器の側面方向よりも上下方向で比較的低くなる。プローブ交換のように磁石に最接近する場合には、非遮蔽型の時と同様の注意が必要である。したがって、遮蔽型の磁石でも十分に生じうる危険を、以下で述べる。例えば、液体窒素充填の際に、トランスファーラインの付け外し用のスパナが鉄製であった場合、誤ってプローブ近辺にまで近付くと、磁石に引きつけられてしまう。その力は磁石の中心に向かうので、プローブやシムコイルを破損する可能性がある。さらに磁性体と磁石の間に人体が位置していた場合には、深刻な怪我にも繋がる。スパナ程度の磁性体となると、磁石に引きつけられた場合には、もはや一人の力では外すことができず、ロープを利用して数人掛かりで引き剥がすことになる。ましてや、もっと大きな磁性体の場合には、その引き付けの力は飛躍的に大きくなる。筆者の知る限りでも、磁性体をぶつけて後述するクエンチにまで至る事故が国内で、年に1、2回の頻度で発生している。

NMR装置の頻繁な利用者が、この磁性体の引きつけの危険を意識していても、頻度の少ない利用者や、施設の保守業者など、通常は滅多に磁石に近づかない方についてはその限りではない。保守業者であれば、作業に必要な工具を不用意に持ち込んだ場合に、引きつけ事故の確率が上がる。それらの方にはその危険性を事前に装置の管理者から作業者に徹底して通達する、装置付近への立ち入りを制限するなどの安全管理システムを確立し

て遵守すべきである。

2) 冷媒による低温やけど

冷媒としての液体窒素は、一般的な実験での取り扱いについて認知されているので、その低温やけどの危険性そのものについては、本稿では多くは触れない。液体窒素は誤って皮膚に触れても、突沸することで気体の断熱層が生成され、一瞬であれば低温やけどには至らない。液体ヘリウムによる低温やけどの危険性は、液体窒素に比べると高いので取り扱いにはより注意が必要となる。液体ヘリウムは、皮膚に付着する性質があるので、少量といえども触れると危険である。手袋や長袖での作業が基本だが、軍手などの目の粗い生地の場合、液体が浸み込んで危険である。生地の細かい化学繊維や、合成皮革の製品を用いて作業すべきである。

冷媒が原因で、低温やけどを負う事故は、冷媒充填作業中が最も多い。最近では、液体窒素の再凝縮装置の導入で、充填が不要になっている場合も多い。特に日本での普及率は高く、ここ数年では新設するNMR装置の80%以上に装備されている。液体窒素の再凝縮装置の運用は、充填作業や、それによる実験の中断からの解放という大きな長所以外にも、冷媒層内外の窒素の出入りが無いため、前述の低温やけどや、後述の酸欠の回避といった安全管理上の観点からも好ましい。冷媒としての液体ヘリウムは、多くのNMR利用者にとっては、日常的に実験で使用することは少ない。技術の発展により液体ヘリウムの充填間隔が3～10ヶ月と長くなったことにより、取り扱い時の危険に曝される回数は減った。さらに危険を減らすには、より取り扱いに慣れた冷媒業者に充填を委託するのも一つの手である。

3) 冷媒による酸欠

気化した冷媒がNMR室に充満し、酸欠によって生命が脅かされることはご存知のことであろう。酸欠の知識として、酸素濃度が10%程度になると、死に至る危険があるということを把握しておかなければならない。このレベルの低酸素濃度では、体内循環において逆に血液中の酸素が取り出されてしまい、血中の酸素濃度が更に低下する。その結果、意識を喪失するので、手遅れになる危険がある。安全性を考えると、18%を切った場合には危険領域と考えて、部屋からの避難、部屋の換気

表1 各酸素濃度において人体に現れる症状

酸素濃度	症状
18%	安全性の下限界：換気が必要
16%	呼吸・脈拍増加、頭痛、吐き気
12%	めまい、吐き気、筋力低下
10%	中枢神経障害、意識喪失、嘔吐
8%	失神、死亡
6%	即失神、心拍停止、短時間で死亡

を行うべきである(表1)。

平常時の冷媒の蒸発は酸欠にとって問題にはならないことが多い。窒素蒸発量は400MHzクラスで、液体で毎時0.3L程度、大型の800MHzクラスで、毎時1L以下である。ヘリウム蒸発量は、窒素の1/10から1/20程度である。建物に付随する一般的な空調設備では、循環する空気に10%程度の外気が取り込まれるので、順調に空調が稼働している場合には、酸欠の観点で危険な状態にはならない。ただし、外気を取り込まない気密性の高い実験室では注意が必要になる。施設担当者にNMR実験室の空調の仕様について問い合わせるべきである。

強い地震が起こった時など、酸欠の危険を伴うクエンチという現象が発生することがある。このクエンチは、磁石容器の高真空状態の解除の結果、断熱効果が失われ、液体ヘリウムが噴出し、超電導状態が破られる現象である。クエンチが起きた場合にすぐに排出されるのはヘリウムである。窒素が出てくるのは数時間程度の時間差がある。クエンチは、液体ヘリウムが勢いよく排出されるので見目に派手だが、磁石容器は十分に耐圧を考慮して設計されているので、いわば想定内のできごとである。圧力を逃がす安全弁の排出方向も、ヘリウムが人に吹きかからないように、上を向いている。ヘリウムガスは比重も軽く、部屋の上部から溜まっていく。これらのことを憶えておいて、吹き出す冷媒と、狭い部屋での一時的な酸素濃度低下に注意して、冷静かつ速やかに避難すれば、まず命の危険はないだろう。加えて、強い地震発生時にNMR室に居合わせず、地震後にそこに入室する際には、クエンチが起こったことを想定して酸欠の危険に留意することを忘れないようにすべきである

最近の磁場遮蔽型の磁石を設置するNMR室は、その漏れ磁場の少なさから狭くなる傾向にあるが、酸欠を防ぐ観点からは、必ずしも好ましいことで

はない。換気扇の設置は、通電時には有効だが、震災時に停電することも想定すれば、部屋の広さを確保することが、最も単純で効果的な対策である。装置の新規の設置あるいは、移設の際には、設置場所の確保に腐心いただきたい。

窒息死の例としては、米国・ニューヨーク州で磁石の納品作業中に、エンジニアが死亡するという事故が発生している。立ち上げ時の液体窒素量は、磁石の大きさ、設計などで使用量は違うが、250L程度を、3～6時間で使用する。使用する窒素量によっては、換気が不十分だと酸欠に陥る可能性が十分にあることを念頭に置いておくべきであろう。

以上、酸欠に関連して述べてきたが、この危険に対して欠かせない対策としては、酸素濃度計の設置である。ヘリウムガスは空気に対して比重が小さいので、天井方向へ拡散するが、窒素ガスは比重が大きく床から充満する。人が倒れた時に備



図1 冷媒の閉塞による真空容器の爆発後の実験室手前に見える筒状のものが磁石の内部容器、奥のものが、磁石の外側の部分である。散乱している破片は、断熱材のアルミ蒸着フィルムである。頑丈なアルミダイカスト製の架台が破壊されるほどのエネルギーである。



図2 2トン以上の耐荷重を有するベースプレートの爆発による破壊。

えて低い位置での酸素濃度が重要なので、床から1m以下の場所へ酸素濃度計のセンサーを設置することを推奨する。酸素濃度計のセンサーには寿命があり、バッテリー交換も含めて、定期的な交換が必要である。酸素濃度計を導入しても、有事の際に動作しないということがないように、日頃の管理を徹底されたい。

4) 大地震の際の倒壊

1995年1月17日の阪神淡路大震災と2011年3月11日の東日本大震災で被害を受けたNMR台数の正確な数字は出ていないが、東日本大震災では磁石の倒壊まで生じたことが報道されたことは記憶に新しい。地震の揺れは、地盤と建物の構造でも大きく違いが出るので、震源地から離れていても磁石の倒壊は生じうる。磁石が倒壊した場合に、人が下敷きにならないようにするには、台座をアンカーで固定して、磁石を天井からロープで繋ぎ止めるという古典的な手法しか既存の設置機器に施せる対策はない。より危険を回避するためには、機器の低層階(冷媒容器の運搬が比較的容易な1階)への設置が望ましい。分光計やエアーコンプレッサーなども転倒に備え、他の什器などと同様に固定が必要である。日本の建築技術は建物全体を免震構造にする工法を既に確立している。人命と高価な研究資産を守るために、今後そのような免震構造をもった研究施設が増えることを希望したい。

5) 冷媒の閉塞による真空容器の爆発

超電導磁石で最も危険なことは、クエンチではなく、窒素やヘリウムのガス排出ポート閉塞による爆発事故である。以下で述べる事故例は、スイスのチューリヒにある、Bruker-Spectrospin社(現



図3 爆発の影響が天井(5m)まで到達した痕跡

Bruker-Biospin社)で30年程前に起きた事故である。事故当時の写真を掲載するが、爆発の凄まじさを容易に想像できる(図1、2、3)。当時の最高磁場の600MHz磁石は、英国Oxford社の製品を使用していた。全ての性能検査が終了して消磁を行い、数日の時間を掛けて昇温させる途中で、液体窒素槽を閉塞させ爆発事故に至った。この時、本来であれば、冷媒の液体窒素をサイフォンにより完全に取出す作業を行った後に、断熱真空層を破り、昇温するのが手順である。しかし、作業が既に金曜の午後に差し掛かったこともあり、時間を短縮させるために、真空層を破ることで冷媒放出を同時に行い、そのまま放置して爆発事故を招いた。不幸中の幸いで、爆発は深夜に発生し、死傷者は出さずに済んだ。この事故はBruker社とOxford社で情報を共有し、事実を公開して既に設置されていた製品にも、爆発時に圧力を逃がす余裕を持たせる対策を無償で施す通知が出された。世の中では事故が発生すると、隠蔽されてしまう場合もあるが、この対応は危険性を公開して事故を未然に防いだという点で適切なものだったと言えるだろう。この情報により、これ以降、全てのメーカーの超電導磁石のデュワーには、圧力を逃がす破裂弁が真空層に装着されることとなった。以後に分析用NMRでは同様の事故例は報告され

ていない。

しかし、臨床用のMRIでは2003年に福島いわき市で磁石の爆発事故が起きた。新規装置への入れ替え作業の際に手順を誤って閉塞させ爆発を引き起こした。このような場合に備えた破裂弁が装備されていたが、人為的なミスでそれを閉じてしまったために爆発事故にまで至った。作業責任者2名を含む計6名が重軽傷を負う事故となった。この作業を行った責任者2名に対して、一審無罪、二審で執行猶予付き禁固6ヵ月の有罪判決が下った。この爆発事故は、人為的なミスで本来の安全機能を発揮できずに爆発した事故例である。冷媒を大量に保持するNMR磁石では、安全装置が付いていようともこのような生命を脅かす爆発事故が起こる可能性があることを、NMR装置に関わる人たちに周知させるべきだろう。

「天災は忘れた頃にやって来る。」と言われる。ほとんどの利用者は、NMR実験室で、潜在的な危険性を、毎日考えながら測定はしていないと思う。しかし、具体的に、どの様な潜在的な危険あるかを知っておくことは心の準備になる。ここで紹介したことが、NMR装置の利用者が安全管理を考えるヒントになれば幸いである。

山本 昭彦(やまもと・あきひこ)

1981年 国際基督教大学 教養学部理学科 卒業、同年日本ブルカー株式会社(現ブルカー・バイオスピンKK)入社、現在、ブルカー・バイオスピンKK 取締役・技術本部長としてNMR、MRIの技術サポートを行っている。2002年日本核磁気共鳴学会会員。

固体NMR測定のための化学シフト標準物質 … ¹³C核に関して …

兵庫県立大学大学院生命理学研究科

辻 暁

私達が固体NMRスペクトルを測定しようとするとき、まずは化学シフトがわかっている何らかの標準物質を用意し、その信号位置をもとに化学シフトの基準(0ppm)を決定する。固体NMRの場合、この化学シフト標準物質に様々な物質が使われており、¹³C核に限っても、アダマンタン、グリシン、ヘキサメチルベンゼン、コハク酸、L-アラニン等が文献中に見いだされる。さらに基準の決定に用いる信号の選択やその化学シフトの値も必ずしも一定していないことから、異なる標準物質で決められた化学シフト間、あるいは溶液NMRの化学シフトとの関係が分かり難くなっている。本稿では、標準物質として比較的多く用いられているアダマンタンとグリシンについて化学シフト標準物質としての特徴を概観し、溶液NMRの化学シフトとの対応づけを中心に解説してみたい。

溶液NMRの化学シフトについては、容量パーセントで1%以下のTMSを含むTMS CDCl₃溶液の¹H核の信号を一次基準(primary reference)として、共鳴周波数比δの値にもとづいて一次基準から全ての核の化学シフトを定めることがIUPACによって推奨されている^[1,2]。一次基準の共鳴周波数ν(¹H)^{TMS}と他の核(X核)の二次基準(secondary reference)となる標準物質の信号の共鳴周波数ν(X)^{reference}の比、

$$\delta/\% = \{ \nu(X)^{\text{reference}} / \nu(^1\text{H})^{\text{TMS}} \} \times 100 \quad \dots(1)$$

の値からX核の化学シフトの基準となる周波数を決める。¹³C核に関してはTMS(TMSの容量パーセント1%以下のCDCl₃溶液: δ = 25.145020%)またはDSSのメチル炭素(D₂O溶液: δ = 25.144953%)の信号が0ppmに対応する二次基準として用いられている。固体NMRの場合にも、¹³C核の化学シフトはアダマンタン等の標準物質のTMSまたはDSSに対する相対化学シフトにもとづいて、TMS、DSSの信号を基準(0ppm)とする化学シフト目盛

りで表わされる。しかし、溶液NMR用測定試料と同じ条件のTMS CDCl₃溶液やDSS D₂O溶液を固体用試料管に入れてMASプローブで測定することは容易ではないから、標準物質の相対化学シフトの中には、同じNMR装置で測定したTMS、DSS溶液の信号との直接比較からではなく、何らかの方法で間接的に見積もられた値も含まれている。このために、固体NMRと溶液NMRの化学シフトの対応には曖昧なところがあり、固体NMRスペクトルの化学シフトを溶液NMRスペクトルの化学シフトと比較して議論しようとするとき、それぞれの化学シフトの基準が一致しているのか、ずれているとすればどれほどずれているのが問題となる。

固体NMRの化学シフト標準物質として、近年比較的広く使われているものはアダマンタンとグリシンだと思われる。以下では、この二つについて標準物質としての特徴を見てみよう。

1) アダマンタン

固体アダマンタンのメチン(CH)炭素とメチレン(CH₂)炭素は、MAS条件下でそれぞれ30ppm付近と40ppm付近に先鋭な信号を与える。アダマンタンについては、同一のMAS条件下で測定された純TMS、TMSのCDCl₃溶液(TMSの容量パーセント2%~3%)、DSSのD₂O溶液(DSSの重量パーセント0.5%)等の信号に対する固体アダマンタンの化学シフトの相対値が実測され、報告されている(表1)^[2,3]。MAS条件下では等方的な体積磁化率の化学シフトへの寄与は消去されるため、MAS条件下で測定されたTMS、DSS、アダマンタン等の化学シフト値は、溶液NMRの内部基準の場合と同様に体積磁化率の違いによる化学シフトへの影響を考えずに比較することができる^[4~6]。

純TMS、TMS CDCl₃溶液、DSS D₂O溶液、固体アダマンタンのメチレン炭素およびメチン炭素の化学シフトを0ppmに置いてある信号を観測したときに、得られる化学シフトの値をそれぞれ

表1 実測されたTMS、DSSの信号に対する固体アダマンタンの相対化学シフト^[3]

^aMAS条件下で測定されたTMS、DSSの信号を基準信号として0ppmにとる。^b容量パーセント。^c重量パーセント。

	相対化学シフト (ppm)	基準信号 (0ppm) ^a
固体アダマンタン メチレン炭素 (CH ₂)	38.48	純TMS
	37.77	TMS 2~3% CDCl ₃ 溶液 ^b
	40.49	DSS 0.5% D ₂ O溶液 ^c (メチル炭素)
固体アダマンタン メチン炭素 (CH)	29.46	純TMS
	28.75	TMS 2~3% CDCl ₃ 溶液 ^b
	31.47	DSS 0.5% D ₂ O溶液 ^c (メチル炭素)

$\delta^{\text{neat TMS}}$ 、 $\delta^{\text{TMS in CDCl}_3}$ 、 $\delta^{\text{DSS in D}_2\text{O}}$ 、 $\delta^{\text{solid adamantane CH}_2}$ および $\delta^{\text{solid adamantane CH}}$ とすると、化学シフトの相対関係は式(2)のようになる^[3]。

$$\begin{aligned} \delta^{\text{neat TMS}} &= \delta^{\text{TMS in CDCl}_3} + 0.71 \\ &= \delta^{\text{DSS in D}_2\text{O}} - 2.01 \\ &= \delta^{\text{solid adamantane CH}_2} + 38.48 \\ &= \delta^{\text{solid adamantane CH}} + 29.46 \quad \dots(2) \end{aligned}$$

$\delta^{\text{TMS in CDCl}_3}$ および $\delta^{\text{DSS in D}_2\text{O}}$ がそれぞれCDCl₃中のTMSとD₂O中のDSSのメチル炭素を基準(0ppm)としたときの溶液NMR化学シフトに対応する。

IUPAC Recommendations 2008では式(2)の関係に基づいて固体アダマンタンの信号から化学シフトの基準を決めることを推奨している^[2]。IUPACは溶液NMRと共通のTMS CDCl₃溶液の信号を0ppmとすることを勧めているが、固体NMRでは習慣的にTMSの基準信号(0ppm)として純TMSの信号位置を用いている点に注意してほしい。

2) グリシン

固体のグリシンは43ppm付近にメチレン炭素(CH₂)、176ppm付近にカルボキシル炭素(COO⁻)由来の信号を与え、先鋭なカルボキシル炭素の信号が¹³C核の化学シフトの基準決定に用いられる。また、¹³C核の基準決定にメチレン炭素の信号を用いたり、¹⁵N核の基準決定にグリシンのアミノ基(NH³⁺)の信号を用いている例もある^[7,8]。グリシンを化学シフトの基準決定に用いると、同じ試料を日常的なMASの角度やデカップリング効率の確認にも使うことができる利点があり、標準物質としてしばしば用いられている。グリシンの固体(粉末微結晶)試料を標準物質として使うときには、異なる化学シフトを持つ結晶多形が存在する点に注

意する必要がある^[9,10]。常温で安定な形としてα形とγ形の2種類があり、化学シフト標準物質としてはα-グリシンが用いられている*。γ-グリシンのカルボキシル炭素、メチレン炭素の信号は、α-グリシンに比べてそれぞれ1.9ppmおよび1.2ppmほど高磁場側に現れる。純TMSを基準(0ppm)とするα-グリシンカルボキシル炭素の化学シフトとして、176.03ppm^[11~13]、176.46ppm^[14,15] および176.49ppm^[16,17]などが用いられている。

*ほとんどの文献でα形γ形の別は明記されていないが、化学シフトの値からα-グリシンを使用していると考えられる。

市販品として入手できるグリシンはγ形の場合がある。アダマンタンのメチレン炭素の信号を0ppmとしたとき、カルボキシル炭素の信号の相対化学シフトが136ppm付近であればγ形、138ppm付近であればα形である。α-グリシンの結晶は、純水に溶かしたグリシンの飽和水溶液を静置し、水を蒸発させてゆっくりと結晶を析出させると得ることができる^[10,18]。

これらの標準物質を用いた固体NMRの化学シフトを溶液NMRの化学シフトと比較したい場合には、どうすれば良いだろうか。

アダマンタンについては、上述のようにTMSおよびDSSに対する相対的な化学シフトが利用できる。固体アダマンタンを化学シフトの標準物質として用いている場合、表1および式(2)の関係をj利用して固体NMRの化学シフト目盛りを直接にTMS CDCl₃溶液またはDSS D₂O溶液を内部基準とする溶液NMRの化学シフト目盛りと一致させて比較することができる。

グリシン等、アダマンタン以外の標準物質を用いて決めた固体NMRの化学シフトを溶液NMRの化学シフトと比較する場合には、固体NMRの化学シフト目盛りで固体アダマンタンの化学シフトを測

定し、表1のTMS、DSSに対するアダマンタンの化学シフトと比較して補正すべき化学シフトのずれを見積もればよい。

例えばグリシンを標準物質として決めた化学シフト目盛りによる固体試料の化学シフトを $\delta^{\text{solid glycine}}$ 、TMS CDCl_3 溶液を基準 (0 ppm) としたときの同じ信号の化学シフトを $\delta^{\text{TMS in CDCl}_3}$ 、グリシンを標準物質として測定された固体アダマンタンメチレン炭素の化学シフトを $\delta^{\text{adamantane solid glycine}}$ とすると、溶液NMRの化学シフトに対応する $\delta^{\text{TMS in CDCl}_3}$ は、TMS CDCl_3 溶液に対する固体アダマンタンメチレン炭素の相対化学シフト $\delta^{\text{TMS in CDCl}_3}_{\text{adamantane}} = 37.77$ ppm (表1) を用いて次のように得ることができる。

$$\begin{aligned} \delta^{\text{TMS in CDCl}_3} &= \delta^{\text{solid glycine}} - \{ \delta^{\text{adamantane solid glycine}} - \delta^{\text{adamantane TMS in CDCl}_3} \} \\ &= \delta^{\text{solid glycine}} - \{ \delta^{\text{adamantane solid glycine}} - 37.77 \} \dots (3) \end{aligned}$$

同様にDSS D_2O 溶液を基準 (0 ppm) としたときの化学シフト $\delta^{\text{DSS in D}_2\text{O}}$ は、 $\delta^{\text{adamantane DSS in D}_2\text{O}} = 40.49$ ppm を用いて

$$\begin{aligned} \delta^{\text{DSS in D}_2\text{O}} &= \delta^{\text{solid glycine}} - \{ \delta^{\text{adamantane solid glycine}} - \delta^{\text{adamantane DSS in D}_2\text{O}} \} \\ &= \delta^{\text{solid glycine}} - \{ \delta^{\text{adamantane solid glycine}} - 40.49 \} \dots (4) \end{aligned}$$

と求められる。

固体NMRと溶液NMRの化学シフトの対応づけは、アダマンタンの信号を利用して容易に行うことができる。結晶形の異なるグリシンに見られるように、固体の標準物質では、溶液試料とは異なり固体物質の状態によって化学シフトが変化することがある*。標準試料の状態と、それに対応する化学シフトを明示して用いれば、固体NMRの化学シフトを取り扱う限り問題は少ないと思われるが、溶液NMRスペクトルとの比較を行う場合には、固体NMR測定に用いている標準試料とアダマンタンを同じ装置で同じ形のローターを用いて測定し、式(3)、式(4)から溶液NMRの基準との対応を確認することが望ましいだろう。

* 同じ α -グリシンでも、試料の状態によってはカルボキシル炭素に0.1 ppm程度の化学シフト変化が観測される。柔粘性(プラスチック)結晶であるアダマンタンではこのような問題は小さいと思われる。

参考文献

- [1] Harris, R. K., Becker, E. D., Cabral de Menezes, S., Goodfellow, R. and Granger, P. (2001) NMR nomenclature. Nuclear spin properties and conventions for chemical shifts. *Pure Appl. Chem.* **73**, 1795-1818.
- [2] Harris, R. K., Becker, E. D., Cabral de Menezes, S., Granger, P., Hoffman, R. E. and Zilm, K. W. (2008) Further conventions for NMR shielding and chemical shifts. *Pure Appl. Chem.* **80**, 59-84.
- [3] Morcombe, C. R. and Zilm, K. W. (2003) Chemical shift referencing in MAS solid state NMR. *J. Magn. Reson.* **162**, 479-486.
- [4] Barbara, T. M. (1994) Cylindrical demagnetization fields and microprobe design in high-resolution NMR. *J. Magn. Reson. A.* **109**, 265-269.
- [5] Dorskocilova, D., Tao, D. D. and Schneider, B. (1975) Effects of macroscopic spinning upon linewidth of NMR signals of liquid in magnetically inhomogeneous systems. *Czech. J. Phys. B.* **25**, 202-209.
- [6] Garraway, A. N. (1982) Magic-angle sample spinning of liquids. *J. Magn. Reson.* **49**, 168-171.
- [7] Duer, M. J., Friscic, T., Murray, R. C., Reid, D. G. and Wise, E. R. (2009) The mineral phase of calcified cartilage: its molecular structure and interface with the organic matrix. *Biophys. J.* **96**, 3372-3378.
- [8] Webber, A. L., Masiero, S., Pieraccini, S., Burley, J. C., Tatton, A. S., Iuga, D., Pham, T. N., Spada, G. P. and Brown, S. P. (2011) Identifying guanosine self assembly at natural isotopic abundance by high-resolution ^1H and ^{13}C solid-state NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 19777-19795.
- [9] Iitaka, I. (1961) The Crystal Structure of γ -Glycine. *Acta Cryst.* **14**, 1-10.
- [10] 永嶋伸也. (1993) アミノ酸と結晶多形. *日本結晶学会誌.* **35**, 381-391.
- [11] Mafra, L., Santos, S. M., Siegel, R., Alves, I., Paz, F. A., Dudenko, D. and Spiess, H. W. (2012) Packing interactions in hydrated and anhydrous forms of the antibiotic Ciprofloxacin: a solid-state NMR, X-ray diffraction, and computer simulation study. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 71-74.
- [12] Toraya, S., Javkhlantugs, N., Mishima, D., Nishimura, K., Ueda, K. and Naito, A. (2010) Dynamic structure of bombolitin II bound to lipid bilayers as revealed by solid-state NMR and molecular-dynamics simulation. *Biophys. J.* **99**, 3282-3289.
- [13] Uekama, N., Sugita, T., Okada, M., Yagisawa, H. and Tuzi, S. (2007) Phosphatidylserine induces functional and structural alterations of the membrane-associated pleckstrin homology domain of phospholipase C- δ 1. *FEBS J.* **274**, 177-187.
- [14] Ahuja, S., Crocker, E., Eilers, M., Hornak, V., Hirshfeld, A., Ziliox, M., Syrett, N., Reeves, P. J., Khorana, H. G., Sheves, M. and Smith, S. O. (2009) Location of the retinal chromophore in the

- activated state of rhodopsin. *J. Biol. Chem.* **284**, 10190-10201.
- [15] 林繁信, 中田真一. (1993) チャートで見る材料の固体NMR. 講談社サイエンティフィク.
- [16] Fang, X. and Schmidt-Rohr, K. (2011) Alkyl and other major structures in ^{13}C -labeled glucose-glycine melanoidins identified by solid-state nuclear magnetic resonance. *J. Agric. Food. Chem.* **59**,

- 481-490.
- [17] Su, Y. and Hong, M. (2011) Conformational disorder of membrane peptides investigated from solid-state NMR line widths and line shapes. *J. Phys. Chem. B.* **115**, 10758-10767.
- [18] Albrecht, G. and Corey, R. B. (1939) The Crystal Structure of Glycine. *J. Am. Chem. Soc.* **61**, 1087-1103.



辻 暁 (つじ・さとる)

兵庫県立大学大学院生命理学研究科准教授
工学博士。1990年東京工業大学大学院理工学研究科博士課程修了。
1991年 姫路工業大学理学部生命科学科助手。
2002年 姫路工業大学理学部生命科学科助教授。
2002年 日本核磁気共鳴学会会員 (2009 ~ 2010年 同評議員)
2004年より現職

東京大学薬学部 嶋田研究室

東京大学大学院薬学系研究科生命物理化学教室
嶋田研究室 博士課程二年

宝田 理

東京大学大学院薬学系研究科博士課程二年の宝田と申します。今回、NMR学会機関誌に私の所属する嶋田研究室を紹介する機会をいただきましたので、研究室の研究内容や普段のラボの様子について紹介していきたいと思えます。

嶋田研は現在、嶋田教授、スタッフの大澤助教、上田助教、西田助教、そしてポスドク、大学院生、学部4年生に加え、技術補佐、秘書さんの計35名体制で研究を行っております。教室名が「生命・物理・化学」教室であるため、分野の異なる他の研究室の人から、どのような研究を行っているのかという質問を受けることもままあるのですが、嶋田研は核磁気共鳴法(物理化学的手法)を用いて生命の本質を明らかにする生物系の研究室です。研究室の歴史は古く、昭和36年に坪井先生が薬品物理化学講座の教授に着任された後、昭和61年に荒田先生が教授に着任され、そして平成6年に嶋田先生が教授に着任され今に至ります。

前述しましたように、嶋田研ではNMR法を中心とした物理化学的手法によって、生体分子の機能発現メカニズムを立体構造の観点から解明することを目指しています。解析対象分子は非常に多岐にわたっており、GPCRやチャンネルなどの膜タンパク質に加えて、Gタンパク質などのように膜タンパク質の機能を制御するタンパク質群、細胞内のシグナル伝達に関与する巨大タンパク質複合体や、細胞骨格蛋白質(アクチンや微小管)、細胞外マトリックス(コラーゲン、ヒアルロン酸など)と相互

作用するタンパク質群などが挙げられます。生体内での相互作用様式を解析する際に、本研究室で開発された巨大タンパク質の相互作用を検出できるNMR手法であるTransferred Cross Saturation(TCS)法を積極的に利用しています。TCS法に関しては、実験的知見とコンピュータシミュレーションを組み合わせ、最適な測定条件を明らかにするような研究も進められています。研究テーマは各々異なるものを遂行していますが、タンパク質機能の本質に迫り、生命現象の分子基盤を明らかにするという大きな目標は全員に共通した研究室のテーマであり、4年生を含めた研究室のメンバー全員がチャレンジかつ生物学的に重要なテーマに精力的に取り組んでおります。

私は現在、微小管モータータンパク質の一つである細胞質ダイニンの微小管親和性制御メカニズムの解明というテーマで研究を行っています。細胞質ダイニンの微小管と結合するドメインがどのように構造変化することで、微小管結合ドメインの微小管親和性変化が達成されているのかを解明し、細胞質ダイニンの微小管上の運動制御機構を明らかにすることを目的に研究を進めております。生体内で機能するタンパク質の正しい姿をNMR試料管中で再構成する必要があるため、遺伝子操作をはじめ、タンパク質の大量調製および精製、タンパク質の性状解析、親和性解析などの機能活性解析を各々が責任をもって行う必要があります。大変なときもありますがとてもやりがいのある研究だと



写真1 総合研究棟地下1階NMR室のパノラマ写真

感じています。

研究室では週に2回、主に火曜日と金曜日に文献紹介と研究報告のセミナーを行なっています。在籍している人数の関係で、文献紹介、研究報告を一年間で各人がそれぞれ2~3回担当しています。普段の嶋田先生はとても気さくで温厚な先生ですが、セミナーの時には厳しく、切れ味鋭い質問や有益なアドバイスをしてくださいます。

普段のラボの様子についてですが、人によって朝型、夜型がありますが、朝10:00には全員が研究室に在席しています。実験内容は各個人で異なりますが、多くの人が大腸菌、酵母、昆虫細胞などを利用してタンパク質の発現・精製を行っています。また、細胞を用いた活性確認やin-cell NMRの研究を行っているグループは哺乳細胞も取り扱っています。NMRの使用に関しては事前に予約申請制になっており、アサインされた時間に従って、地下1階のNMR室にある5台のNMR(800 MHz, 600 MHz×2, 500 MHz, 400 MHz)を効率よく全員で利用しています(写真1)。また、嶋田研には実験室、居室のほかにディスカッションルームがあります。週末のディスカッションの時だけでなく、昼食、夕食、休憩時などに利用しており、エスプレッソマシンで豆から抽出したコーヒーを嗜みながら研究談義に花を咲かせております。夜は大体22:00から日付が変わる前くらいまでに帰宅する方が多いです。

研究以外の行事としては、新人歓迎会、研究室旅行、忘年会、送別会などに加えて、薬学系研究科内での運動会および水上運動会があります。運動会では、検見川にある東大グラウンドを使って、



写真2 検見川運動会で卓球大会優勝時の写真(右が筆者)



写真3 研究室BBQ

サッカー、ソフトボール、バドミントン、卓球の4種類の競技を研究室対抗で行い、毎年白熱した戦いを繰り広げています。また水上運動会は、戸田競艇場にて行われる研究室対抗のボート大会となっています。過去にこれらの行事では、男子卓球で二年連続優勝、ボート大会で女子チームが優勝を達成しており、研究での成果に加えて、このような行事での成果も鑑みますと、メンバー全体の息があった研究室なのではないかと思えます。

新日鐵住金株式会社 先端技術研究所

新日鐵住金株式会社 先端技術研究所
金橋 康二

NMR学会機関誌の「NMR研究室便り」の原稿執筆の依頼を受けましたので、弊社のNMR研究に関して紹介させていただきます。弊社は「製鉄」が本業であり、その分析・解析ツールとして多岐にわたる機器分析装置を所有しております。製鉄プロセスは主に鉄鉱石と石炭（コークス）から銑鉄を作り、銑鉄の不純物を取り除いた鋼をつくる上行程（図1）と、鋼の組織制御を行い、自動車用の薄板等を生産する下行程に大別されます。鉄鋼業で良く用いられる電子顕微鏡は下行程の材料を対象としているのに対し、NMRは石炭やスラグ（銑鉄や鋼を作る際に産出される副産物）といった上行程の材料を主に測定ターゲットとしています。

鉄鋼製品の源である高炉では、石炭を蒸し焼きにしたコークスで鉄鉱石を還元しますが、近年ではコストダウンを目的としてコークスの投入量を低減し、比較的安価な微粉炭を吹き込むことが盛んに行われています。石炭を直接高炉に入れるため石炭自体の構造や性状が高炉の還元効率に影響する上、近年石炭の品質が多様化する中で、様々な山元の石炭を使用する操業リスクを最小化する必要があります。高炉で新規の石炭を直接利用し、石炭の良し悪しを評価するのはリスクが高い

ため、新たに使用する石炭を事前に評価する解析技術の確立が非常に重要となります。NMRは石炭のような多成分で複雑な構造を持つ天然物の構造解析に有効ですので、石炭の燃焼性に関する有機質（¹³C, ¹H等）の構造や石炭のハンドリングに関する無機質（²⁹Si, ²⁷Al等）の構造を同定・定量することによって、石炭を評価し選択できる指標化を行いました。ちなみに、石炭を全量溶かすことのできる溶媒は残念ながら存在しないため、固体NMRの測定がメインとなります。固体NMRの分解能を上げることが石炭評価の精度に直接影響しますので、高磁場や新しいパルスシーケンスも取り入れることで、より良い評価指標を提案するようにしています。弊社では現在300～700MHzの4台のNMR装置を所有しており、測定対象材料の種類や核種、存在量に応じてこれらの装置をフル稼働させて測定を行っています。特に高磁場の装置は、²⁷Al, ¹⁷O, ⁴³Ca, ²⁵Mg等の四極子核の測定で飛躍的な高分解能化を達成することができ、弊社で多く取り扱う無機材料の解析に多大な貢献をしてきました。一例として、石炭の固体²⁷Al NMRスペクトルを図2に示します。低磁場では4配位と6配位Alのブロードなピークが見られるのみで、各

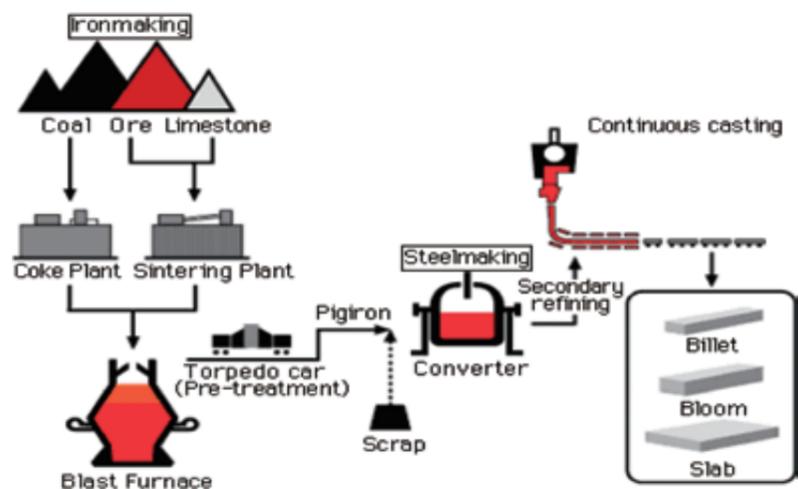


図1 製鉄プロセス（上行程部分）

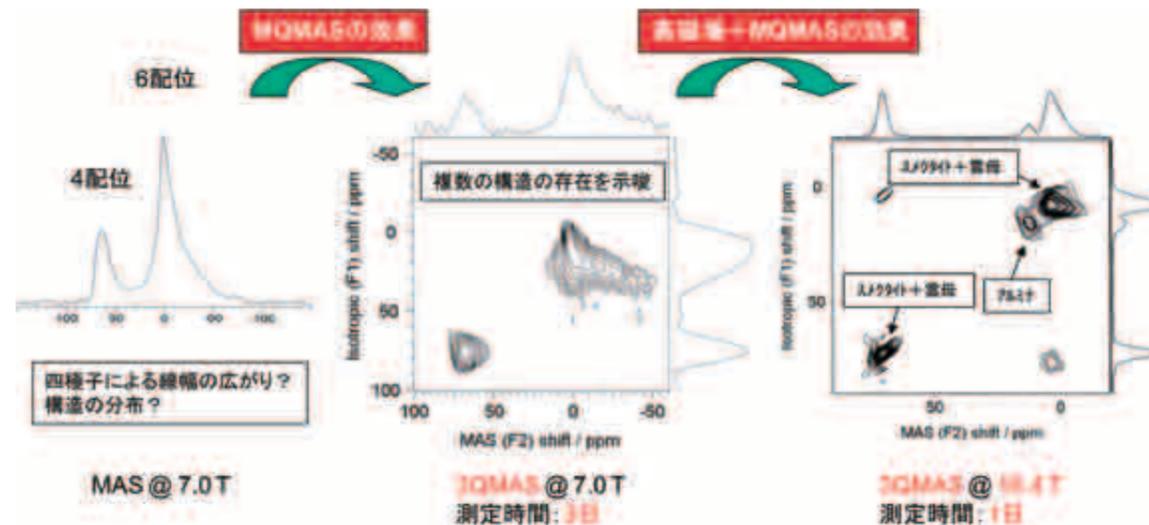


図2 石炭の²⁷Al MASおよび3QMASスペクトル

配位数の存在比率程度の情報しか得られませんが（場合によってはこの情報だけでも十分な場合があります）、磁場強度を上げてMQMASの測定を行うことによって、6配位Alの中でも複数の鉱物種にピークを区別・定量できるようになります。これらの区別された鉱物種はそれぞれ異なる性質を持つことから、指標化を行う上で非常に有用なデータとなります。また、固体NMR用の試料管の大きさ（直径）についても、1.2mm～8mmをラインナップし、回転周波数と対象核の濃度に応じて使い分けています。1.2mmの高速回転プローブは¹Hや¹⁹Fの測定で威力を発揮しますし、8mmのプローブは試料充填量を増やすことができるため、低感度な²⁹Siや⁴³Caの測定で活躍しています。

石炭と並び、弊社での重要な上行程の材料としてスラグが挙げられます。スラグは原料（鉄鉱石、スラグ、石灰石等）から銑鉄や鋼を作り出す際に大量に発生する副産物であり、冷却されたスラグはセメント原料や路盤材等に再利用されています。これらのスラグの品質や長期安定性を評価する上でも固体NMRは重要なツールとなっています。スラグはCa, Si, Al, Mg等の複雑な構造を持つ複合無機酸化物であり、急冷すると結晶性が失われるため、XRD (X-ray Diffraction) 等の回折法での構造解析が困難となります。一方、NMRは核種毎の構造情報が得られ、非晶質にも有効であることから、スラグの構造解析には打って付けであると言えます。核種毎の構造情報をパズルのピースのように組み合わせて、スラグ全体の構造を推定することによって、スラグの品質評価に役立っています。また、実際のプロセスにおいては、溶けたス

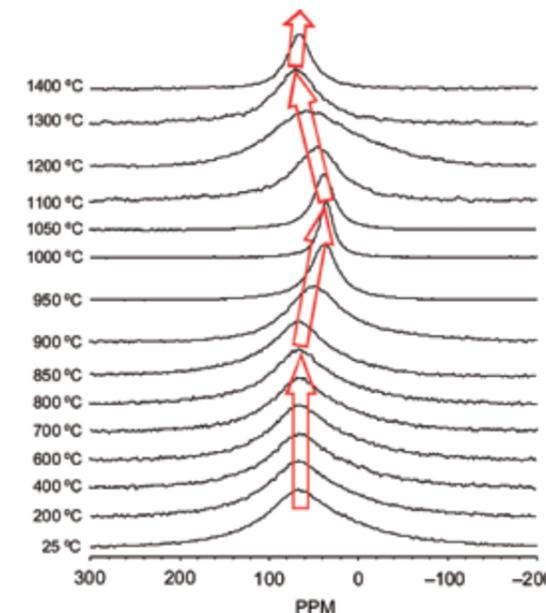


図3 CaO-Al₂O₃-SiO₂系ガラスの高温 in situ ²⁷Al NMR スペクトル

ラグは1,500°C程度の高温で溶けた鉄と接触し、不純物を取り除く重要な働きがあります。すなわち、熔融スラグと溶鉄との間での物質移動が行われ、その効率は溶けたスラグの構造や粘性によって支配されます。高温熔融状態のスラグの構造を推定するために、熔融状態のスラグを急冷したガラス試料を用いてNMR測定を行うのが一般的な方法ですが、このメルトクエンチ法の場合、見ている構造は厳密にはガラス転移温度付近の構造であり、任意の熔融温度の構造ではありません。さらに、分子運動が凍結されてしまうため、運動性（緩和時間）の情報が失われてしまうという問題があります。そこで、1,500°Cまでその場観察 (in situ) が

できる高温NMRプローブを開発し、実際の熔融状態でのスラグのNMRスペクトルを測定することで、図3に示すようにスラグ構造の温度依存性を明らかにすることができるようになりました。また、緩和時間がスラグの粘性と密接に関連していることもわかってきました。これらは、他の解析機器では得られないNMRならではの情報であるといえます。

以上、簡単ではございますが、弊社でのNMRの活用内容について紹介させていただきました。鉄鋼業においては、電子顕微鏡やXRDを中心とし

た解析がメインであるのは事実ですが(実際、電子顕微鏡やXRD装置はどこの会社にもあるが、NMRは必ずしもそうではない)、「NMRでも測れる」ではなく、「NMRでしか測れない」情報を引き出し、会社の利益に貢献することが、企業におけるNMRの存在意義ではないかと考えています。今後もNMR学会のメンバーの先生方や装置メーカーの御指導・御協力を仰ぎながら、企業に役立つ、学術的にも評価されるような研究を進めていきたいと考えています。

若手NMR研究会報告

北海道支笏湖ユースホステルで開催された 第13回若手NMR研究会報告

北海道大学大学院生命科学院 生物情報解析科学研究室
博士後期課程1年

田巻 初

はじめに

2012年7月19日～21日に第13回若手NMR研究会が北海道・支笏湖ユースホステルで開催されました。若手NMR研究会は、文字通り若手研究者が企画・運営し、NMRの勉強や若手研究者間のコミュニケーションを目的とした合宿形式の研究会です。ここでは実行委員を代表し、開催までの道のりや、会期中の様子についてご報告したいと思います。

開催までの道のり

若手NMR研究会は毎年、NMRを用いて研究を行っている研究室が持ち回りで運営しています。阪大蛋白研 主催で行われた昨年6月の第12回研究会の懇親会にて、「次回は北大で!」とご指名を受け、開催代表を担当することになりました。早速、出村誠先生、河野敬一先生、石森浩一郎先生がそれぞれ率いる生物情報解析科学研究室、蛋白質科学研究室、構造化学研究室で大学院生が相談しました。その結果、田巻初(D1)を代表とし、今井瑞衣(D1)、櫛引崇弘(D1)、高梨善彦(M2)、木戸浩貴(M1)、土肥央(M1)の計6名が実行委員となり準備を始めることとしました。

実行委員会では、まず研究会の方向性を左右するテーマについて議論し、第13回では「生体分子の構造・相互作用解析」をテーマとして掲げることに決定しました。実行委員のメンバーはNMRを用いて生体分子、特にタンパク質の構造・相互作用を研究しております。NMRの測定・解析は初学者には敷居が高く、更に最近では解析ターゲットの高難易度化が進み、試料調製から解析手法まで幅広い知識が要求されるようになってきている、と考えました。そこで、NMRの原理、試料調製法、構造解析、相互作用解析を幅広くカバーする内容とすることにいたしました。

ご講演していただく具体的な講師については、

実行委員が各々教科書や論文、NMR討論会の要旨集等を持ち寄り、全国から集まる若手研究者が興味をもってもらえそうな先生を検討いたしました。また第12回に引き続き、「学生セッション」と題して、参加者による口頭発表の演題募集をすることにし、最終的に以下のプログラムとなりました。

7月19日

1. 池上 貴久 先生(阪大)「構造や相互作用解析に用いられる様々なNMR測定法の原理」

7月20日

1. 相沢 智康 先生(北大)「NMR解析に用いるタンパク質試料の調製技術」
2. 栃尾 尚哉 先生(理研)「高分子量タンパク質のNMR解析」
3. 小橋川 敬博 先生(北大)「NMRによるタンパク質の構造・相互作用研究のための一工夫」
4. 嶋田 一夫 先生(東大)「NMRによる膜タンパク質の機能解明」
5. 松木 陽 先生(阪大)「タンパクの固体NMR—今できること、できないこと—」
6. 学生セッション
 - (1) 高橋 里佳(北大)「溶液NMR法を用いたジャガイモ由来抗菌ペプチドsnakin-1の立体構造解析」
 - (2) 堤 尚孝(京大)「NMRを用いたインターロイキン18と受容体の相互作用に関する研究」
 - (3) 田中 勇帆(東京理科大)「過剰次数ARMAモデル近似によるNMR信号のパラメータ推定—ガウシアン信号を含む場合のパラメータ推定精度の検証—」
 - (4) 北沢 創一郎(立命館大)「蛋白質の高ギブス自由エネルギー状態が安定化した変異体の合理的設計と立体構造解析」
 - (5) 服部 良一(阪大)「リジン¹³Cメチル化法のタ

受領日：2012年8月23日 受理日：2012年8月27日 編集委員：出村 誠

ンパク質・タンパク質相互作用解析への適用]

7月21日

1. 佐藤 一 先生 (ブルカー・バイオスピン)「NMRのハードウェアと最新の技術」
2. 神田 大輔 先生 (九大)「大きな運動性に起因するサンプリング問題 (結晶解析) と意味なし平均問題 (NMR) の解決に向けた試み」

会場は、札幌近郊で北海道らしく景色が良い場所にしようと考え、支笏洞爺国立公園内に位置する支笏湖温泉の支笏湖ユースホテルといたしました。

1年前に北海道開催が決まってからプログラム、会場、企業協賛交渉、共催案内、ホームページ公開など実行委員が分担して準備してきました。企画会議もおそらく20回以上行ったと思います。その結果、予算については、たくさんの企業にご協賛していただき、また参加者についても、北海道開催ということで心配をしておりましたが、総数51名 (講師8名、学生34名、企業2名、研究機関等7名) の参加をいただき、何とか例年通りの規模で開催することができました。

会期中の様子

2泊3日の会期中は大きなトラブルもなく、爽やかな天気にも恵まれ、順調に運営できたと考えています。

研究会のプログラムはメインの講義から始まりました。1日目の池上先生、2日目の第一演者の相沢先生には研究会全体を通して基礎となる、多次元NMRの原理と生体分子の試料調製の概要について講義していただきました (写真1)。続いて、



写真1 講義中の様子。講義後は会場から質問も多数でした

NMRによるタンパク質の構造解析や相互作用研究の講演となりました。栃尾先生には高分子量タンパク質のNMR解析に向けた無細胞タンパク質合成系の実験テクニックを講義していただきました。小橋川先生には膜結合分子の研究に利用されているナノディスクや、ランタノイドタグを用いた構造解析、タンパク質の部分同位体標識手法について講義していただきました。

2日目午後からは、NMRによる膜タンパク質の機能解明について嶋田先生にご講演いただき、転移交差飽和法などを用いた実際の研究例を詳しく紹介していただきました。松木先生には固体NMRの基礎と現在の課題、その解決に向けた研究について講義していただきました。3日目午前には佐藤先生にNMRのハードウェアサイドから最新の装置や実験手法について講義していただきました。また神田先生にはTom20を例にNMRにとらわれず結晶構造解析も駆使した構造生物学研究について講義していただきました。

2日目に行われた学生セッションでは5大学から発表があり、いずれの発表も興味深い内容で、質疑応答時には多くの質問・コメントがあり、白熱した議論となりました (写真2)。またセッションの最後に河野敬一先生 (北大) から参加者に向けて、熱いメッセージが送られました。

合宿形式の研究会の醍醐味は、何と言っても夜遅くまでお酒を飲みながら参加者同士が語らうことではないかと思えます。1日目には夕食後、お酒を片手に参加研究室の紹介を行っていただきました。参加者の研究室がどのようなところなのか、どのような研究をしているのかなど「笑い」を交えつつ発表していただきました。2日目の学生セッション終了後には支笏湖ユースホテル前で記念写真を撮りました (写真3)。懇親会では、北海道



写真2 学生セッション 質疑応答の様子

名物であるジンギスカンの鍋を囲いながら、参加者の交流が行われました (写真4)。

第13回研究会の反省と今後の発展

第13回は当初の計画通り準備・運営ができ、大きなトラブルなく終了することができました。一方終了して感じたことは、私見ではありますが、参加者層の偏りがあったことが反省点であります。第13回ではテーマを「生体高分子、特にタンパク質のNMR」に絞ったため、やはり全体的にタンパク質研究者が大多数でした。これはテーマを絞ったため当然ですが、この分野外からの参加の敷居が高くなってしまったのではないかと考えられます。この課題は複雑で、単にテーマをNMR一般にしまうと、参加者数を担保することや深い議論をすることが難しくなってしまいます。一方で、テーマを絞りこんでしまうと、参加者層が偏ってしまいます。第13回には信号処理を専門としている研究室から参加者がおり、その方々とお話してみると、これまでNMRでは用いられていない手法を取り入れることで、測定・解析技術をもっと改良できるかもしれない、という印象を受けました。生体系の近い研究分野の方が集まることも大切ですが、材料応用や装置開発などより幅広い分野の方も集まって交流できる企画にしていくというのも、今後の若手NMR研究会、そしてNMR研究分野の発展のためにも重要なのではないかと思います。

第14回若手NMR研究会は京大・片平研究室が主催する予定です。この記事を読み、研究会に興味を持たれた“自称若手”のいろいろな専門分野の方々が、来年度ご参加いただけますと幸いです。



写真3 集合写真。参加者のみなさん、ありがとうございました。



写真4 懇親会の様子。ジンギスカンを囲んでニコニコ！

最後になりましたが、ご参加いただいた皆様、講師の諸先生、会場の支笏湖ユースホテルの皆様、協賛企業・学会の関係者各位に、この場をお借りして心より御礼申し上げます。

参考サイト：

第13回若手NMR研究会ホームページ

<https://www.sci.hokudai.ac.jp/grp/nmr/wakate-nmr13/>

NMR学会の決定事項

日本核磁気共鳴学会
2011年度通常総会議事次第

日 時：2011年11月16日(水)

11時30分～12時05分

場 所：大さん橋ホール

総会次第

1. 開会の辞
2. 会長挨拶
3. 2011年NMR討論会世話人挨拶
4. 事業報告
5. 2010年度収支決算の承認
6. 2011年度中間報告の承認
7. 2012年度収支予算案の承認
8. 2012年度役員選任
9. 名誉会員推戴の提案
10. 2012年NMR討論会世話人挨拶
11. 閉会の辞

会員数

会員種別	2009年 9月30日	2010年 9月30日	2011年 9月30日
正会員	396	394	395
学生会員	107	113	128
名誉会員	8	9	10
賛助会員	7	7	8
合 計	518	523	541

H23年度現役役員名簿

■会長(H22-H23)

嶋田 一夫 東京大学

■理事(H23-H24)

阿久津秀雄 大阪大学

朝倉 哲郎 東京農工大学

伊藤 隆 首都大学東京

河合 剛太 千葉工業大学

内藤 晶 横浜国立大学

■理事(H22-H23) 会長(*) 副会長(**)

嶋田 一夫(*) 東京大学

鈴木榮一郎(**) 味の素

加藤 晃一 自然科学研究機構

竹腰清乃理 京都大学

西村 善文 横浜市立大学

■会計監査(H22-H23)

安藤 勲 東京工業大学

寺尾 武彦 京都大学・名誉教授

■評議員(H23-H24)

阿久津秀雄 大阪大学

朝倉 哲郎 東京農工大学

伊藤 隆 首都大学東京

稲垣 冬彦 北海道大学

大木 進野 北陸先端科学技術大学院大学

河合 剛太 千葉工業大学

河野 敬一 北海道大学

神田 大輔 九州大学

菅瀬 謙治 サントリー生物有機科学研究所

内藤 晶 横浜国立大学

林 繁信 産業技術総合研究所

水野 元博 金沢大学

三森 文行 国立環境研究所

村田 道雄 大阪大学

飯塚 舜介 鳥取大学

山本 泰彦 筑波大学

■評議員(H22-H23)

浅川 直紀 群馬大学

池上 貴久 大阪大学

甲斐荘正恒 名古屋大学

梶 弘典 京都大学

片平 正人 京都大学

加藤 晃一 自然科学研究機構

亀田 恒徳 農業生物資源研究所

嶋田 一夫 東京大学

白川 昌宏 京都大学

榛葉 信久 味の素

鈴木榮一郎 味の素

竹腰清乃理 京都大学

楯 真一 広島大学

出村 誠 北海道大学

西村 善文 横浜市立大学

平沖 敏文 北海道大学

廣明 秀一 名古屋大学

事業報告

I. 現時点での会員数

II. 活動報告と方針の提案

●2010年度

1. 第49回NMR討論会

2. 「日本核磁気共鳴学会 若手研究者渡航費助成金」の募集と選定
3. 会員サービスの推進
4. 会誌の発行
5. その他

●2011年度

1. 第50回NMR討論会
2. 「日本核磁気共鳴学会 若手研究者渡航費助成金」の募集と選定
3. 会員サービスの推進
4. 日本学術会議協力学術研究団体への登録
5. その他

●2012年度 (方針)

1. 第51回NMR討論会
2. 「日本核磁気共鳴学会 若手研究者渡航費助成金」の募集と選定
3. 会員サービスの推進
4. その他

日本核磁気共鳴学会
2011年度通常総会議事録

日 時：2011年11月16日(水)

11時30分～12時00分

会 場：大さんばしホール

出席 115名+委任状32名

* 定足数[一般会員395名(2011年9月30日現在)]
/5=79名

* 資料に基づき全て承認された。

* 2010年度収支決算について監査報告がなされた。

* 安藤 勲先生(東京工業大学名誉教授)と寺尾武彦先生(京都大学名誉教授)が名誉会員に推戴された。

日本核磁気共鳴学会役員(第6期)(H23～H24)

平成24年度の評議員が選出された。

評議員(H24-H25)

伊倉 光彦 Ontario Cancer Institute

池上 貴久 大阪大学

梶 弘典 京都大学

木川 隆則 理化学研究所

菊地 淳 理化学研究所

北原 亮 立命館大学

児嶋長次郎 大阪大学

嶋田 一夫 東京大学

鈴木榮一郎 味の素株式会社

高橋 栄夫 横浜市立大学

出村 誠 北海道大学
西村 善文 横浜市立大学
平沖 敏文 北海道大学
廣明 秀一 神戸大学
藤原 敏道 大阪大学

下記は、平成23年度選出の評議員である。

評議員(H23-H24)

阿久津秀雄 大阪大学

朝倉 哲郎 東京農工大学

伊藤 隆 首都大学東京

稲垣 冬彦 北海道大学

大木 進野 北陸先端科学技術大学院大学

河合 剛太 千葉工業大学

河野 敬一 北海道大学

神田 大輔 九州大学

菅瀬 謙治 サントリー生物有機科学研究所

内藤 晶 横浜国立大学

林 繁信 産業技術総合研究所

水野 元博 金沢大学

三森 文行 国立環境研究所

村田 道雄 大阪大学

飯塚 舜介 鳥取大学

山本 泰彦 筑波大学

平成24年度選出の評議員から理事(追加分)が選出された結果、平成24年度理事、会計監査、幹事は、以下のように決定した。会長(*) 副会長(**)

理 事

朝倉 哲郎 * 東京農工大学 H23-24(25)

内藤 晶 ** 横浜国立大学 H23-24

池上 貴久 大阪大学 H24-25

嶋田 一夫 東京大学 H24-25

鈴木榮一郎 味の素 H24-25

西村 善文 横浜市立大学 H24-25

藤原 敏道 大阪大学 H24-25

阿久津秀雄 大阪大学 H23-24

伊藤 隆 首都大学東京 H23-24

河合 剛太 千葉工業大学 H23-24

会計監査

相沢 智康 北海道大学 H24-25

山崎 俊正 農業生物資源研究所 H24-25

幹 事

出村 誠 北海道大学

加藤 晃一 自然科学研究機構

水野 元博 金沢大学

高橋 栄夫 横浜市立大学

2012年度NMR討論会プログラム

会期： 2012年11月8日(木)～10日(土)
November 8(Thu)-10(Sat), 2012
会場： ウィンクあいち
WINC HALL
〒450-0002 愛知県名古屋市中村区名駅4-4-38

第1日目 11月8日(木) / Day 1 (Nov. 8, Thu)

9:25 ~ 9:30

開会の挨拶 朝倉 哲郎 (日本核磁気共鳴学会会長)

9:30 ~ 10:30

座長 児嶋 長次郎

L1 脂質膜中におけるアンフォテリシンB-エルゴステロール分子間相互作用の固体NMR解析
Bimolecular Interaction Analysis between Amphotericin B and Ergosterol
in Lipid Membrane as Viewed by Solid-State NMR

○梅川 雄一, 中川 泰男, 土川 博史, 松森 信明, 村田 道雄 (大阪大学大学院 理学研究科)

L2 絹の多様な¹³Cラベル化と固体NMRによるβシート構造の解析
Structural analysis of silks with β-sheet structure by combination of
several ¹³C labeling and solid-state NMR

○奥下 慶子¹, 小川 達也¹, 鈴木 悠¹, 宮澤 健太¹, 中澤 靖元¹, 朝倉 哲郎^{1,2} (¹東京農工大学大学院 工学府, ²分子科学研究所)

L3 ベイズ法を利用した新規構造計算手法の開発

Development of the Bayesian-based structure determination

○池谷 鉄兵¹, 嶋崎 真那人¹, 三島 正規¹, 伊藤 隆¹, Peter Güntert^{1,2,3} (¹首都大学東京大学院 理工学研究科, ²フランクフルトゲート大学 生物物理研究科, ³フランクフルトゲート大学 先端研究所)

10:30 ~ 10:40 休憩/Break

10:40 ~ 11:20

Chairperson: Daisuke Kohda

L4 A solid-state NMR study of banana liquid crystals

○Kazuhiko Yamada¹, Sungmin Kang¹, Eun Woo Lee¹, E-Joon Choi², Kenzo Deguchi³, Tadashi Shimizu³, Junji Watanabe¹ (¹Tokyo Institute of Technology, ²Kumoh National University of Technology, ³National Institute for Materials Science)

L5 Induction of Residual Dipolar Coupling by Aggregates of Magnetically
Aligning Self-Assembled Complexes

○Ryosuke Takeuchi¹, Sota Sato¹, Maho Yagi^{3,4}, Yoshiki Yamaguchi², Koichi Kato^{3,4,5}, Makoto Fujita^{1,5} (¹Department of Engineering, The University of Tokyo, ²RIKEN, ³Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, ⁴Okazaki Institute for Integrative Bioscience, ⁵CREST)

11:20 ~ 12:00

Chairperson: Yutaka Ito

L6 Pressure-induced chemical shifts as probes for conformational fluctuations in proteins

○Ryo Kitahara¹, Kazumi Hata², Hua Li³, Michael P Williamson⁴, Kazuyuki Akasaka⁵ (¹College of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University, ²R-GIRO, Ritsumeikan University, ³Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Institute for Biological Sciences, ⁴Department of Molecular Biology and Biotechnology, The University of Sheffield, ⁵High Pressure Protein Research Center, Institute of Advanced Technology, Kinki University)

L7 Transient Structure of the Kinetic Intermediate of Apomyoglobin Monitored
by Quench-Flow HD Exchange NMR

○Chiaki Nishimura^{1,2}, Peter E. Wright¹ (¹Department of Molecular Biology, The Scripps Research Institute, ²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo-Heisei University)

12:05 ~ 12:35 日本核磁気共鳴学会総会 / Meeting of the NMR Society of Japan

12:35 ~ 13:50 昼食/Lunch
ランチョンセミナー / Luncheon Seminar

13:50 ~ 15:20 ポスターセッション (偶数番号、若手ポスター賞審査)
Poster Session (even numbers, Young Scientists Poster Awards)

15:20 ~ 15:30 移動・休憩/Break

Parallel Session 1

15:30 ~ 18:30 "New Frontiers of NMR in Asia"

Chairpersons: Hideo Akutsu and Koichi Kato

15:30 ~ 15:35 Introduction

15:35 ~ 17:05

IL1 *Invited Lecture 1*
Recognition and regulation of small ubiquitin-like modifier (SUMO)
○Tai-huang Huang (Institute of Biomedical Sciences Academia Sinica)

IL2 *Invited Lecture 2*
Method Development and Application of Magnetic Resonances for
Membrane Protein Structure and Function Studies
Chaowei Shi¹, Kaiqi Wu¹, Pan Shi², Juan Li¹, Dong Li¹, Fangming Wu², Changlin Tian^{1,2} (¹School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, ²High Magnetic Field Laboratory, Chinese Academy of Sciences)

IL3 *Invited Lecture 3*
To walk or not to walk, and how should they walk:
myosin's "clients" share some decision making power
○Mingji Zhang (Division of Life Science, Hong Kong University of Science and Technology)

17:05 ~ 17:20 Break/休憩

17:20 ~ 18:20

IL4 *Invited Lecture 4*
Are the Dynamics of Acyl Carrier Protein Domain in FAS/PKS Critical to its Function?
Jackwee Lim¹, Huihua Sun², Jing-Song Fan¹, Zhao-Xun Liang², Daiwen Yang¹ (¹Department of Biological Sciences, National University of Singapore, ²School of Biological Sciences, Nanyang Technological University)

IL5 *Invited Lecture 5*
NMR-based rational drug design: Applications to GPCR-targeted drugs
○Weontae Lee¹, Jihye Yun¹, Daesuk Oh¹, Sung-Kil Lim² (¹Department of Biochemistry and Structural Biochemistry & Molecular Biophysics Laboratory, Yonsei University, ²Department of Internal Medicine, College of Medicine, Yonsei University)

18:20 ~ 18:30 Discussion

Parallel Session 2

15:30 ~ 18:30 「材料分析・評価・品質管理におけるNMR」

座長 吉水 広明, 浅川 直紀

15:30 ~ 15:35 趣旨説明

15:35 ~ 16:25

- IL6 *Invited Lecture 6*
 合成高分子の一次構造解析にむけた溶液NMRのアプローチ：
 スペクトルの多変量解析とDOSY
 Multivariate Analysis and DOSY — Solution NMR Approaches to the Molecular
 Characterization of Synthetic Polymers
 ○右手 浩一 (徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部)

16:25 ~ 16:35 休憩/Break

16:35 ~ 17:25

- IL7 *Invited Lecture 7*
 NMRの分析手法としての汎用性について
 NMR as a versatile analytical tool for industrial issues from research and
 development activities to quality control
 ○山口 秀幸 (味の素株式会社イノベーション研究所 フロンティア研究所食品官能特性研究グループ)

- IL8 *Invited Lecture 8*
 無機ガラス材料の構造解析入門編
 An introduction of structural analysis for glass
 ○関 庚薫 (旭硝子(株)中央研究所)

17:25 ~ 17:35 休憩/Break

17:35 ~ 18:25

- IL9 *Invited Lecture 9*
 リチウムイオン二次電池材料のNMR分析
 NMR analysis of Li-ion battery materials
 ○上口 憲陽 (株式会社日産アーク)

- IL10 *Invited Lecture 10*
 NMRと材料開発
 NMR applications for the material developments
 ○橋本 康博 (旭化成(株)・新事業企画開発室)

18:25 ~ 18:30 総合討論

18:40 ~ 評議員会 (会議室 906)

第2日目 11月9日(金) / Day 2 (Nov. 9, Fri)

9:10 ~ 9:50

Chairperson: Masatsune Kainosho

- L8 Interaction of RNA Aptamer with Prion Protein and Monitoring of
 Biodegradation of Wood Biomass
 Tsukasa Mashima¹, Hiroshi Nishimura^{2,5}, Hideyasu Okamura¹, Fumiko Nishikawa³, Yuji O. Kamatari⁴,
 Takashi Nagata¹, Satoshi Nishikawa³, Kazuo Kuwata⁴, Takashi Watanabe^{2,5}, ○Masato Katahira^{1,5} (¹Institute
 of Advanced Energy, Kyoto University, ²RISH, Kyoto University, ³AIST, ⁴Gifu University, ⁵CREST)
- L9 Functional modulation of protein through the change in its structure dynamics
 ○Shin-ichi Tate (Department of Mathematical and Life Sciences, Hiroshima University)

9:50 ~ 10:30

Chairperson: Ichio Shimada

- IL11 *Invited Lecture 11*
 Dynamics on the surface of amyloid β protofibrils in solution:
 Dark-state exchange saturation transfer NMR
 ○Nicolas L. Fawzi¹, Jinfa Ying¹, Rodolfo Ghirlando², Dennis A. Torchia³, G. Marius Clore¹ (¹Laboratories of
 Chemical Physics, ²Molecular Biology, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases,
³National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health)

10:30 ~ 10:40 Break/休憩

10:40 ~ 11:20

Chairperson: Fuyuhiko Inagaki

- L10 Manganese-enhanced MRI using intermediate-affinity manganese chelates
 ○Yoshiteru Seo¹, Hironobu Morita², Masataka Murakami³ (¹Dept of Regulatory Physiology, Dokkyo
 Medical University School of Medicine, ²Dept of Physiology, Gifu University Graduate School of Medicine,
³National Institute for Physiological Sciences)
- L11 Electronic Structure of Heme Sandwiched between All-parallel G-quadruplex DNAs
 ○Yasuhiko Yamamoto¹, Hulin Tai¹, Kaori Saito¹, Hikaru Hemmi², Nagao Kobayashi³
 (¹Department of Chemistry, University of Tsukuba, ²National Food Research Institute, National
 Agriculture and Food Research Organization, ³Department of Chemistry, Graduate School of Science,
 Tohoku University)

11:20 ~ 12:00

Chairperson: Michio Murata

- IL12 *Invited Lecture 12*
 New Developments in the ADEQUATE NMR Experiments
 ○R. Thomas Williamson¹, Gary E. Martin², Alexei Buevich³, Misha Reibarkh¹, Wolfgang Berme⁴ (¹Merck
 & Co. Inc. Discovery and Preclinical Sciences, Process and Analytical Chemistry-Structure Elucidation,
²Merck & Co. Inc. Discovery and Preclinical Sciences, Process and Analytical Chemistry-Structure
 Elucidation, ³Merck & Co. Inc. Discovery and Preclinical Sciences, Process and Analytical Chemistry-
 Structure Elucidation, ⁴Bruker BioSpin GmbH)

12:00 ~ 13:30 Lunch/昼食

新評議員会・新理事会 (会議室 906)

13:30 ~ 14:10

Chairperson: Kiyonori Takegoshi

- L12 ¹H-¹⁴N overtone HMQC above 110 kHz MAS
 ○Yusuke Nishiyama, Michal Malon, Takahiro Nemoto, Yuki Endo (JEOL RESONANCE Inc.)
- L13 Breakdown of a common notion for ²⁹Si NMR of aluminosilicates:
 Information from J-resolved and CPMG measurements
 ○Xianyu Xue, Masami Kanzaki (Institute for Study of the Earth's Interior, Okayama University)

14:10 ~ 14:50

Chairperson: Motohiro Mizuno

- IL13 *Invited Lecture 13*
 Following Function in Real Time: New NMR and MRI Methods for
 Studying Structure and Dynamics in Batteries, Fuel Cells and Supercapacitors
 ○Clare P. Grey (¹Department of Chemistry, University of Cambridge, ²Department of Chemistry, Stony
 Brook University)

14:50 ~ 15:00 Break/休憩

15:00 ~ 15:40

Chairperson: Makoto Demura

- L14 Photo reaction cycle and photo-activated structural changes of photoreceptor
 membrane proteins as revealed by *in situ* photoirradiated solid-state NMR
 ○Akira Naito¹, Yuya Tomonaga¹, Tetsuro Hidaka¹, Ryota Miyasa¹, Izuru Kawamura¹, Yuki Sudo², Takashi
 Okitsu³, Akimori Wada³, Naoki Kamo⁴ (¹Graduate School of Engineering, Yokohama National University,
²Graduate School of Science, Nagoya University, ³Department of Organic Chemistry for Life Science,
 Kobe Pharmaceutical University, ⁴College of Pharmaceutical Science, Matsuyama University)
- L15 Automated Signal Assignment and Secondary Structural Analysis of Non-Crystalline
 Proteins by Fragment-Based Solid-State NMR Spectral Reconstruction
 ○Keisuke Ikeda^{1,2}, Ayako Egawa¹, Kokoro Hayashi³, Chojiro Kojima¹, Toshimichi Fujiwara¹ (¹Institute for
 Protein Research, Osaka University, ²Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama,
³Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology)

15:40 ~ 16:20

Chairperson: Akira Naito

- IL14 *Invited Lecture 14*
Interleaved CW irradiation and rf pulses for efficient re- and decoupling in solid-state NMR
○Niels C. Nielsen (Center for Insoluble Protein Structures (inSPIN), Interdisciplinary Nanoscience Center (iNANO) and Department of Chemistry, Aarhus University)

16:20 ~ 16:30 Break/休憩

16:30 ~ 17:10

Chairperson: Yoshifumi Nishimura

- HL1 *Honorary Lecture 1*
Protein NMR before the dawn
○Keiichi Kawano (Grad. Sch. Life Sci., Hokkaido University)

17:10 ~ 17:50

Chairperson: Tetsuo Asakura

- HL2 *Honorary Lecture 2*
A short essay on my NMR studies
○Taro Eguchi (Osaka University)

17:50 ~ 18:30

Chairperson: Mitsuhiro Ikura

- IL15 *Invited Lecture 15*
Singlet NMR
○Malcolm H. Levitt (Southampton University)

18:45 ~ Banquet (Hotel Castle Plaza)/懇親会 (キャッスルプラザ)

第3日目 11月10日(土)/Day 3 (Nov. 10, Sat)

9:10 ~ 9:50

座長 河合 剛太

- L16 SAIL - NMR法によるジスルフィド結合の立体配座決定と動態解析
SAIL-NMR studies on the disulfide bond conformation and dynamics in proteins
○武田 光広¹, 寺内 勉^{2,3}, 甲斐荘 正恒^{1,2,4}, (¹名古屋大学大学院 理学研究科, ²首都大学東京 戦略研究センター, ³SAILテクノロジーズ, ⁴大阪大学 蛋白質研究所)

- L17 高分子量機能性RNAの局所構造・状態解析のため部位特異的標識法
Site-specific stable-isotope-labeling techniques of RNA molecules for structural and mechanistic studies with NMR spectroscopy
○田中 好幸¹, 芦原 悠太¹, 春田 佳一郎¹, 河原 郁美^{1,2}, 児嶋 長次郎², (¹東北大学大学院 薬学研究所, ²大阪大学 蛋白質研究所)

9:50 ~ 10:30

座長 大木 進野

- L18 βラクトグロブリンの折り畳みストラテジー
Folding Strategy of bovine β-Lactoglobulin
○櫻井 一正¹, 北山 寛貴¹, 八木 正典², 池上 貴久¹, 西村 千秋³, 後藤 祐児¹, (¹大阪大学 蛋白質研究所, ²大阪大学 微生物病研究所, ³帝京平成大学 薬学部)

- L19 Structure and dynamics of yeast calmodulin
○小椋 賢治¹, 岡村 英保², 久米田 博之¹, 矢澤 道生³, 稲垣 冬彦¹, (¹北海道大学先端生命科学研究所, ²京都大学エネルギー理工学研究所, ³北海道大学大学院理学研究科)

10:30 ~ 10:40 休憩/Break

10:40 ~ 11:20

座長 山本 泰彦

- L20 準静的な内部/外部磁場勾配下でのNMR:
固体高分子の輸送現象と磁気共鳴イメージング
A utilization of internal/external quasi-static magnetic field gradients: transport phenomenon and magnetic resonance imaging of solid polymers
○浅川 直紀, 小畑 命輝 (群馬大学大学院工学研究科応用化学・生物化学専攻)

- L21 ナノダイヤモンドを用いた光検出磁気共鳴顕微鏡装置の開発と生物試料への応用
Development of a microscope optically detecting magnetic resonance in nanodiamond and application to observation of biological samples
○森 重之¹, 吉成 洋祐², 五十嵐 龍治¹, 外間 進悟¹, 横田 浩章², 柄尾 豪人¹, 白川 昌宏¹, 原田 慶恵^{2,3}, 池田 和寛⁴, 角谷 均⁴ (¹京都大学大学院工学研究科, ²京都大学物質-細胞統合システム拠点, ³京都大学大学院生命科学研究科, ⁴住友電気工業株式会社 エレクトロニクス・材料研究所)

11:20 ~ 12:00

座長 林 繁信

- L22 固体⁴³Ca NMRによるガラス中のカルシウムの構造的役割の特定
Probing the structural role of calcium in alkaline and alkaline-earth aluminosilicate glass by solid-state ⁴³Ca NMR
○金橋 康二 (新日鐵住金(株) 先端技術研究所)

- L23 高磁場光ポンピングによるアルカリ金属イオンの核スピン偏極
High-field optical pumping for nuclear spin polarization of alkali-metal ions
○石川 潔 (兵庫県立大学大学院 物質理学研究科)

12:00 ~ 13:15 昼食/Lunch

13:15 ~ 14:45 ポスターセッション (奇数番号)
Poster Sessions (odd numbers)

14:45 ~ 14:55 移動・休憩/Break

14:55 ~ 16:35 若手ポスター賞受賞口演
Short talks by Young Scientists Poster Awards Winners

座長 藤原 敏道, 鈴木 榮一郎

16:35 ~ 16:45 休憩/Break

16:45 ~ 17:45

座長 平沖 敏文

- L24 固体NMRによるマジックサイズCdSeナノ粒子の表面構造解析
Solid-State NMR Study of Surface Structure on Magic-Sized CdSe Nanoparticles
○野田 泰斗^{1,2}, 水野 敬³, 武田 和行¹, 竹腰 清乃理¹, 粕谷 厚生⁴, (¹京都大学大学院理学研究科, ²JST・先端, ³(株)JEOL RESONANCE, ⁴東北大学学際センター)

- L25 常磁性により複雑化したMAS線形における選択励起
-リチウムイオン電池正極材への応用-
Selective excitation of a MAS sideband spectrum spreading widely by paramagnetic interaction: application to cathode materials of Li-ion battery
○村上 美和¹, 高澤 信明², 汐月 大志², 寺島 純平², 荒井 創¹, 内本 喜晴³, 小久見 善八¹, (¹京都大学産官学連携本部, ²トヨタ自動車株式会社, ³京都大学大学院 人間・環境学研究科)

- L26 固体¹⁵N NMRを用いた鉄含有ポリアニリン炭素化物の構造解析
¹⁵N Solid State NMR Study of Iron-Containing Pyrolyzed Polyaniline
○黒木 重樹¹, 上口 憲陽², 木村 英昭³, 山内 一夫⁴, (¹東京工業大学大学院 理工学研究科, ²(株)日産アーク, ³ブルカー・パオスピン(株), ⁴KAUST)

17:45 閉会の挨拶 加藤 晃一 (第51回NMR討論会世話人代表)

一般ポスター発表 / Poster presentation

- P1 SAIL法による巨大蛋白質の新規立体構造解析法の開発
Structural analysis for larger proteins using the relaxation optimized SAIL amino acids
○宮ノ入 洋平¹, 武田 光広¹, 大熊 宏昌^{2,3}, 小野 明^{2,3}, 寺内 勉^{2,3}, 甲斐荘 正恒^{1,2} (¹名古屋大学大学院 理学研究科 構造生物学研究センター, ²首都大学東京 戦略研究センター, ³SAILテクノロジー株式会社)
- P2 **YI** 安定同位体標識セルロース系バイオマスの溶液および固体NMR法による構造解析
Structural Analysis for Stable-Isotope labeled Cellulosic Biomass using Solution and Solid-State NMR Spectroscopy
○小松 功典¹, 菊地 淳^{1,2,3,4} (¹横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ²理化学研究所 植物科学研究センター, ³理化学研究所 バイオマス工学研究プログラム, ⁴名古屋大学大学院 生命農学研究科)
- P3 酵母*K. Lactis*発現系を用いた高分子量蛋白質の重水素化およびメチル選択標識
Perdeuteration and methyl selective ¹H/¹³C-labeling using *Kluyveromyces lactis* expression system
宮沢-大浪 真由美¹, ○竹内 恒², 杉木 俊彦¹, 高野 等寛¹, 嶋田 一夫^{2,3}, 高橋 栄夫^{2,4} (¹バイオ産業情報化コンソーシアム, ²産業技術総合研究所・バイオメディシナル情報研究センター, ³東京大学大学院・薬学系研究科, ⁴横浜市立大学・生体超分子システム科学専攻)
- P4 **YI** ヒト主要組織適合複合体の安定化機構に関する解析
The analysis on stabilization mechanism of Human Leukocyte Antigen
○谷中 冴子¹, 菅瀬 謙治², 上野 貴将³, 津本 浩平¹ (¹東京大学大学院新領域創成科学研究科, ²(財)サントリー生物有機科学研究科, ³熊本大学エイズ学研究センター)
- P5 特徴的なリピート構造を有するカイコ由来DNA結合ドメインSTPRの解析
NMR analysis of the novel DNA-binding domain STPR of the silkworm
○柚原 光佑, 西野 明理沙, 横山 卓也, 相沢 智康, 神谷 昌克, 熊木 康裕, 滝谷 重治, 菊川 峰志, 出村 誠, 河野 敬一 (北海道大学大学院 生命科学院)
- P6 NMRとシミュレーションによるクルクミンのカルシトニン線維形成阻害機構の解明
Interaction of human calcitonin with curcumin as an inhibitor of fibrillation as revealed by NMR and docking simulation
○竹内 健¹, 渡邊 ひかり¹, ナムスライ ジャブクラントウス¹, 廣田 洋², 内藤 晶¹ (¹横浜国立大学大学院 工学研究院, ²理化学研究所)
- P7 カプトガニ由来抗菌ペプチドTachyplesin Iとキチンの相互作用解析
Analysis of interaction between tachyplesin I, an antimicrobial peptide derived from horseshoe crab, and chitin
○楠引 崇弘¹, 神谷 昌克¹, 相沢 智康¹, 熊木 康裕², 菊川 峰志¹, 出村 誠¹, 川畑 俊一郎³, 河野 敬一¹ (¹北海道大学大学院生命科学院, ²北海道大学大学院理学院, ³九州大学大学院理学院)
- P8 **YI** DNA修復蛋白質MutLの核磁気共鳴法による解析
NMR study on DNA repair protein MutL
○水島 良太^{1,2}, 高井 朋代², 福井 健二³, 李 映昊² (¹大阪大学大学院 生命機能研究科, ²大阪大学 蛋白質研究所, ³理化学研究所 播磨研究所 放射光システム生物学研究グループ)
- P9 マウス由来の新規低分子RNAの構造的特徴の解析
Structural analysis of novel small RNA from mouse
○奥居 沙弥¹, 牛田 千里², 清澤 秀孔³, 河合 剛太¹ (¹千葉工業大学, ²弘前大学, ³高知大学)
- P10 NMR structure and dynamics of chromatin remodeling component BAF155
○Sunjin Moon, Sooho Choi, Weontae Lee (Department of Biochemistry, College of Life Science and Biotechnology, Yonsei University)
- P11 ナガガジ由来III型不凍蛋白質の不活性型および活性型変異体の溶液構造解析
NMR structure of a defective isoform and its activity-improved variant of type III antifreeze protein form *Zoarces elongates Kner*
○久米田 博之¹, 小椋 賢治¹, 西宮 佳志², 三浦 愛², 稲垣 冬彦¹, 津田 栄² (¹北海道大学先端生命科学 構造生物学研究室, ²産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門)

- P12 **YI** β_2 -アドレナリン受容体の efficacy 決定機構の解明
Efficacy of the β_2 -adrenergic receptor is determined by conformational equilibrium in the transmembrane region
○幸福 裕^{1,2}, 上田 卓見¹, 奥出 順也¹, 白石 勇太郎¹, 近藤 啓太¹, 前田 正洋³, 辻下英樹³, 嶋田 一夫^{1,4} (¹東京大学 大学院薬学系研究科, ²日本バイオ産業情報化コンソーシアム, ³塩野義製薬, ⁴産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター)
- P13 ヘテロクロマチンタンパク質HP1 α セリンリン酸化クロモドメインのNMR構造解析
NMR structure of the HP1- α chromodomain phosphorylated at N-terminal serine residues
○川口 あゆみ¹, 下條 秀朗¹, 濱田 京子², 中山 潤一², 西村 善文¹ (¹横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ²理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター)
- P14 NMR Studies on NOX Activator 1 (NOXA1)
○Pravesh Shrestha¹, Ji-Hye Yun¹, Yun Soo Bae², Weontae Lee¹ (¹Department of Biochemistry, College of Life Science and Biotechnology, Yonsei University, ²Department of Life Science, Ewha Woman's University)
- P15 ヘテロクロマチン構造形成因子Swi6クロモドメインとヒストンH3K9me3ペプチドの複合体の構造解析
Structural analysis of heterochromatin-related protein, Swi6 chromodomain bound to histone H3K9me3 peptide
○中村 紗里¹, 下條 秀朗¹, 中山 潤一², 西村 善文¹ (¹横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ²理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター)
- P16 **YI** 100残基を超える機能性RNAのNMR法による立体構造解析
Structural analysis of functional RNA longer than 100 nt by using NMR
○大山 貴子, 河合 剛太 (千葉工業大学工学部生命環境科学科)
- P17 テロメアDNAとhTRF2塩基性ドメインの相互作用解析
Analysis of telomere DNA - hTRF2 basic domain interactions
○鈴木 啓介, 下條 秀朗, 岩沢 佳尚, 村井 元気, 西村 善文 (横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科 生体超分子システム科学専攻)
- P18 NMRに基づく白血球遊走制御因子FROUNT - 抗炎症薬候補化合物の相互作用解析
NMR analyses of the interaction between the chemotaxis-regulating factor FROUNT and an anti-inflammatory compound
○日隈 達也¹, 吉永 壮佐¹, 江崎 芳¹, 寺島 裕也², 遠田 悦子², 松島 綱治², 寺沢 宏明¹ (¹熊本大学大学院 生命科学研究部, ²東京大学大学院 医学系研究科)
- P19 NMR and Native-PAGE analyses of the phospholipase C- δ 1 pleckstrin homology domain
○谷生 道一, 西村 勝之 (分子科学研究所)
- P20 **YI** ユビキチンの高エネルギー状態N₂の立体構造解明
Solution structure of the alternatively folded state of ubiquitin
○北沢 創一郎¹, 亀田 倫史², 矢木 真穂^{3,4}, 菅瀬 謙治⁵, Nicky Baxter⁶, 加藤 晃一^{3,4}, Williamson Michael P.⁶, 北原 亮¹ (¹立命館大学薬学部, ²産総研・生命情報工学研究センター, ³岡崎統合バイオサイエンスセンター, ⁴名古屋市立大学大学院薬学研究科, ⁵サントリー生命科学財団, ⁶シェフィールド大学・分子生物バイオテクノロジー学科)
- P21 PDZドメインに群特異的に相互作用する低分子化合物の探索
Screening of small molecules specifically interacting with PDZ domains
○天野 剛志^{1,2}, 合田 名都子^{1,2}, 岩谷 奈央子¹, 木下 賢吾^{2,3,4}, 太田 元規^{2,5}, 廣明 秀一^{1,2} (¹名古屋大学大学院 創薬科学研究科, ²JST BIRD, ³東北大学大学院 情報科学研究科, ⁴東北大学 加齢医学研究所, ⁵名古屋大学大学院 情報科学研究科)
- P22 メチル基選択的プロトン標識を用いたHeLa細胞中の in-cell NMR解析
Methyl group as probes for proteins in NMR experiments in HeLa cells
○晴枝 貴洋¹, 浜津 順平¹, Dambarudhar Shiba Sanker Hembram¹, 池谷 鉄兵¹, 三島 正規¹, 白川 昌宏², 伊藤 隆¹ (¹首都大学東京大学院 理工学研究科, ²京都大学大学院 工学研究科)

- P23 ミミズ由来R型レクチンC末端ドメインの異なったラクトース結合状態でのNMR解析
NMR analysis of the C-terminal domain of R-type lectin from earthworm in different lactose-bound states
○逸見 光¹, 久野 敦², 海野 幸子², 平林 淳³ (¹農研機構・食総研, ²産総研・糖鎖医工学研究センター, ³産総研・幹細胞工学研究センター)
- P24 **YI** リジン¹³Cメチル化法のタンパク質・タンパク質相互作用解析への適用
Utilization of lysine ¹³C-methylation NMR for protein-protein interaction studies
○服部 良一¹, 古板 恭子¹, 大木 出², 池上 貴久¹, 深田 はるみ³, 白川 昌宏⁴, 藤原 敏道¹, 児嶋 長次郎^{1,2} (¹大阪大学 蛋白質研究所, ²奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科, ³大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科, ⁴京都大学大学院 工学研究科)
- P25 ヒトストマチンSPFHドメインの溶液構造とその多量体形成に関する研究
後藤 俊介^{1,2}, 岩谷 奈央子^{1,2}, 亀川 亜希子³, 合田 名都子^{1,2}, 濱田 大三¹, 天野 剛志^{1,2}, 藤吉 好則³, ○廣明 秀一^{1,2,4} (¹神戸大学大学院医学研究科, ²名古屋大学大学院創薬科学研究科, ³名古屋大学細胞生理学研究センター, ⁴神戸大学G-COE統合的膜生物学の国際教育研究拠点)
- P26 高圧NMR法によるc-Myb DNA結合ドメインの動的構造に関する研究
High-Pressure NMR Study on Structural Dynamics of c-Myb DNA-Binding Domain
○稲葉 理美¹, 前野 覚大², 金折 賢二³, 赤坂 一之², 織田 昌幸¹ (¹京都府立大学大学院 生命環境科学研究科, ²近畿大学 高圧力蛋白質研究センター, ³京都工芸繊維大学 工学研究科)
- P27 好熱性水素細菌シトクロムc₅₅₂におけるヘリックス接触界面への構造化学的摂動がヘム活性部位の電子構造に及ぼす影響の解析
Structural and Functional Consequences of Perturbations on Interhelical Interaction in *Hydrogenobacter thermophilus* Cytochrome c₅₅₂
○利根川 健¹, 太 虎林¹, 逸見 光², 山本 泰彦¹ (¹筑波大学大学院数理物質科学研究科, ²農業・食品産業技術総合研究機構)
- P28 **YI** Large amplitude interface dynamics in FKBP-ligand complexes revealed by the aromatic ring flipping and hydroxyl proton exchange rates for the interfacial tyrosine residues
○Chun-Jiun Yang¹, Mitsuhiro Takeda², JunGoo Jee³, Akira M. Ono⁴, Tsutomu Terauchi⁴, Masatsune Kainosho^{1,2,5} (¹Graduate School of Science and Engineering & Center for Priority Areas, Tokyo Metropolitan University, ²Structural Biology Research Center, Graduate School of Science, Nagoya University, ³College of Pharmacy, Kyungpook National University, ⁴SAIL Technologies Inc., ⁵Protein Research Institute, Osaka University)
- P29 アメロジェニンの自己集合の性質
Self-assembly properties of amelogenin
○熊木 康裕¹, 相沢 智康², 神谷 昌克², 出村 誠², 河野 敬一² (¹北海道大学大学院 理学研究院, ²北海道大学大学院 先端生命科学研究院)
- P30 αラクトアルブミンのモルテン・グロビュール状態と生物機能
The molten globule state and its biological function in α-lactalbumin
○中村 敬^{1,2}, 真壁 幸樹^{1,2,3}, 相沢 智康⁴, 河野 敬一⁴, 出村 誠⁴, 桑島 邦博^{1,2,3} (¹分子科学研究所, ²岡崎統合バイオサイエンスセンター, ³総合研究大学院大学 物理科学研究科 機能分子科学専攻, ⁴北海道大学大学院 先端生命科学研究院)
- P31 家蚕液状絹の特異構造-Silk I-の構造解析
Observation of Silk I conformation in *Bombyx mori* liquid silk
○鈴木 悠¹, 山崎 俊正², 朝倉 哲郎¹ (¹東京農工大学大学院工学府生命科学専攻, ²農業生物資源研究所)
- P32 MAPキナーゼ p38αの活性および基質選択性的アロステリックな調節機構の解明
Allosteric enhancement of enzymatic activity and substrate selectivity of MAP kinase p38α by the docking interaction
○徳永 裕二^{1,2}, 竹内 恒², 高橋 栄夫^{2,3}, 嶋田 一夫^{2,4} (¹バイオ産業情報化コンソーシアム 研究開発部門, ²産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター, ³横浜市立大学 生体超分子システム科学専攻, ⁴東京大学大学院 薬学系研究科)

- P33 Chp1クロモドメインの立体構造解析
Solution structure of the Chp1 chromodomain
○下條 秀朗¹, 石田 真由美^{2,3}, 中山 潤一^{2,3}, 西村 善文¹ (¹横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科生体超分子システム科学専攻, ²理研CDBクロマチン動態研究チーム, ³関西学院大学大学院理工学研究科)
- P34 少数の標識体を用いてアミノ酸を判別する組み合わせ選択標識法
Novel Combinatorial Selective Isotope Labeling Method to Discriminate Amino-acids with a Small Number of Labeled Samples
○葛西 卓磨¹, 小柴 生造^{1,2}, 横山 順^{1,3,4}, 木川 隆則^{1,3,5} (¹理化学研究所 生命分子システム基盤研究領域 NMRパイプライン高度化研究チーム, ²横浜市立大学 生命ナノシステム科学研究科 生体超分子システム科学専攻, ³理化学研究所 イノベーション推進センター 無細胞技術応用研究チーム, ⁴太陽日酸株式会社 つくば研究所, ⁵東京工業大学 大学院総合理工学研究科 知能システム科学専攻)
- P35 好熱性水素細菌シトクロムc₅₅₂のヘム軸配位子Metと環状水素結合ネットワークを形成するアミノ酸側鎖の性質とレドックス機能の関係
Roles of Gly50 Residue Forming a Unique Loop Hydrogen Bond Network with Axial Met59 in Functional Control of *Hydrogenobacter thermophilus* Cytochrome c₅₅₂
○伊豆本 幸恵, 三上 真一, 太 虎林, 山本 泰彦 (筑波大学大学院 数理物質科学研究科)
- P36 **YI** Solution structure and dynamics of C-ter100 domain of Vibrio extracellular metalloprotease derived from *vibrio vulnificus*
○Ji-Hye Yun¹, Heeyoun Kim¹, Juang Eun Park², Jung Sup Lee², Weontae Lee¹ (¹Department of Biochemistry, College of Life Science and Biotechnology, Yonsei University, ²Department of Biotechnology, College of National Sciences, Chosun University)
- P37 キャビティが決める蛋白質構造の揺らぎ:T4リゾチームの¹³C-, ¹⁵N-, ¹H-高圧NMR
Crucial roles of cavity in the conformational fluctuation of a protein: A high pressure ¹³C-, ¹⁵N-, ¹H-NMR study of T4 lysozyme
○前野 覚大^{1,2}, 北原 亮^{2,3}, 横山 茂之^{4,5}, F.W. Dahlquist⁶, F.A.A. Mulder⁷, 赤坂 一之^{1,2} (¹近畿大学先端技術総合研究所 高圧力蛋白質研究センター, ²理化学研究所播磨SPRING-8, ³立命館大学薬学部, ⁴東京大学大学院 理学系研究科, ⁵理化学研究所 生命分子システム基盤研究領域, ⁶カリフォルニア大学サンタバーバラ校 生物化学科, ⁷オーフス大学 化学科)
- P38 気孔密度を調節するペプチドホルモンの構造と機能
Structure-function relationship of peptide hormones regulating stomatal density
○大木 進野¹, 竹内 誠¹, 森 正之² (¹北陸先端科学技術大学院大学ナノマテリアルテクノロジーセンター, ²石川県立大学生物資源工学研究所)
- P39 ヒストンシャペロンhNap1のC末端酸性ドメインとヒストンH2A/H2Bの相互作用
Interaction between H2A/H2B heterodimer and the acidic domain of histone chaperone hNap1
○森脇 義仁¹, 奥脇 暢², 永田 恭介², 戸所 泰人¹, 佐藤 昌彦¹, 長土居 有隆¹, 西村 善文¹ (¹横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ²筑波大学大学院 人間総合科学研究科)
- P40 **YI** Structural studies of plant telomere binding proteins and their binding mechanism to telomeric DNA
○Inhwan Lee¹, Ji-Hye Yun¹, Myeon Haeng Cho², Weontae Lee¹ (¹Department of Biochemistry, Yonsei University, ²Department of Biology, Yonsei University)
- P41 NMRによるマルチドメインタンパク質PKCの構造解析
NMR studies of the multidomain protein PKC
秋吉 克昂¹, 金場 哲平¹, 前崎 綾子^{1,2}, 宮崎 健介¹, 伊藤 隆¹, ○三島 正規¹ (¹首都大学東京 理工学研究科, ²奈良先端大バイオサイエンス研究科)
- P42 ケモカインシグナル制御因子FROUNTの構造生物学的研究
Structural analyses of FROUNT, the regulator of chemokine signaling
○吉永 壮佐¹, 辻 辰一郎¹, 藪田 晃弘¹, 石田 規人¹, 土屋 祐輔¹, 江崎 芳¹, 寺島 裕也², 遠田 悦子², 齊藤 貴士³, 神田 大輔³, 嶋田 一夫⁴, 松島 綱治², 寺沢 宏明¹ (¹熊本大学大学院 生命科学部, ²東京大学大学院 医学系研究科, ³九州大学 生体防御医学研究所, ⁴東京大学大学院 薬学系研究科)

- P43 タンパク質リンカー変異を用いた残基特異的¹⁵N化学シフト異方性テンソル決定技術
Determination of the residue-specific ¹⁵N chemical shift anisotropy by using the loop length variant mutants
○玉利 佑, 徐 宇, 楯 真一 (広島大学大学院 理学研究科)
- P44 **Y1** ¹⁹F NMRを用いた高精度な定量分析法の開発
Development of accurate quantification method by using ¹⁹F NMR
○山崎 太一, 齋藤 剛, 井原 俊英 (産業技術総合研究所 計測標準研究部門)
- P45 新規重水素標識コリンの合成と¹⁵N DNP-NMRスペクトル
Synthesis and ¹⁵N DNP-NMR profile of a new perdeuterated choline
○熊谷 慶子¹, 赤壁 麻依¹, 川島 一泰¹, 津田 雅之¹, 阿部 孝政², 津田 正史³ (¹高知大学総合研究センター, ²オックスフォード・インストゥルメンツ株式会社, ³高知大学海洋コア総合研究センター)
- P46 **Y1** 重水素化グルコースを用いたDNP-13C-NMRスペクトル
¹³C-NMR Spectra of Hyperpolarized Deuterated Glucoses by DNP
○赤壁 麻依¹, 熊谷 慶子¹, 津田 雅之¹, 津田 正史², 市川 和洋³, 阿部 孝政⁴, 福士 江里⁵, 川端 潤⁵ (¹高知大学 総合研究センター, ²高知大学 海洋コア総合研究センター, ³九州大学 先端融合医療レドックスナビ研究拠点, ⁴オックスフォード・インストゥルメンツ株式会社, ⁵北海道大学大学院農学研究科)
- P47 長い縦緩和時間を利用した高感度溶液NMR測定法の開発と¹³C直接観測への応用
Development of a novel high-sensitivity solution NMR measurement method utilizing long longitudinal relaxation time and the application to ¹³C direct detection
○古板 恭子, 服部 良一, 池上 貴久, 藤原 敏道, 児嶋 長次郎 (大阪大学 蛋白質研究所)
- P48 **Y1** Sf9細胞のin-cell NMR: シグナル帰属と構造解析の試み
In-cell NMR in Sf9 cells: strategies for resonance assignments and structural analyses
○浜津 順平¹, 田中 孝¹, 白井 隆弘¹, 池谷 鉄兵¹, 三島 正規¹, 白川 昌宏², 伊藤 隆¹ (¹首都大学東京大学院 理工学研究科 分子物質化学, ²京都大学大学院 工学部 分子工学)
- P49 天然変性蛋白質PQBP1のセグメント標識
Segmental labeling of the intrinsically disordered protein PQBP1
○水口 峰之, 鍋島 裕子 (富山大学薬学部)
- P50 **Y2** 緩和分散差スペクトル法による混みあったNMRスペクトルの緩和分散データの解析
Extracting information on protein dynamics from crowded NMR spectra using relaxation dispersion difference
○小沼 剛, 菅瀬 謙治 ((公財) サントリー生命科学研究財団 生物有機科学研究科)
- P51 対流の影響を抑制した¹³C観測DOSY
¹³C-Detected DOSY with Convection Compensation
○松原 康史 (日本ポリケム株式会社 研究開発部)
- P52 **Y2** ポリ乳酸の物性を左右する立体規則性とそのNMRピークの起源
The Chemical Shift Origin of Stereoregularity of Poly Lactic Acid controlling the Physical Properties
○菅沼 こと^{1,2}, 堀内 健², 松田 裕生², 右手 浩一³, 朝倉 哲郎¹ (¹東京農工大大学院 工学府, ²帝人株式会社 構造解析研究所, ³徳島大学大学院 ソシオテクノサイエンス研究部)
- P53 マンノースオリゴ糖鎖の配座解析に有益なNMR測定法
Useful NMR methods for the conformational analysis of the oligomannose chains
○鶴澤 洵^{1,2}, 関 宏子², 山口 芳樹¹ (¹理化学研究所 糖鎖構造生物学研究チーム, ²千葉大学 分析センター)
- P54 **Y2** エピガロカテキンガレート (EGCg) 誘導体の合成とNMRによる構造解析
Synthesis and structure analysis using NMR of (-)-epigallocatechin gallate (EGCg) derivatives
○梅原 将洋, 西村 栄作, 齋 政彦, 伊藤 建比古 (森永製菓株式会社ヘルスケア事業部)
- P55 GM-1 ガングリオシドがクラスター化したナノ表面の自己組織化
Self-Assembly of Nano-Surface Decolated with Ganglioside GM-1 Clusters
○佐藤 宗太¹, 吉正 泰¹, 藤田 大士¹, 矢木 真穂², 加藤 晃一^{2,3}, 藤田 誠^{1,3} (¹東京大学大学院工学系研究科, ²岡崎統合バイオサイエンスセンター, ³CREST)

- P56 **Y2** 溶液NMRを用いたポリカーボネート樹脂中の難燃剤の定量
Quantitative analysis of fire retardants in polycarbonate by NMR
○古川 諒一, 兼崎 隆 (出光興産株式会社 先進技術研究所)
- P57 植物代謝活性の評価技術高度化の試み
Evaluating plant metabolic activity by advanced NMR method
○大石 梨紗¹, 渡辺 太二¹, 篠 阿弥宇², 菊池 淳^{1,2,3,4} (¹横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科, ²理化学研究所 植物科学研究センター, ³理化学研究所 バイオマス工学研究プログラム, ⁴名古屋大学 大学院生命農学研究科)
- P58 **Y1** ¹⁹F NMRによる液相析出法の反応機構の評価
Evaluation of the reaction mechanism for Liquid Phase Deposition (LPD) method by ¹⁹F NMR
○奥村 雄三, 牧 秀志, 水畑 穰 (神戸大学大学院 工学研究科)
- P59 常磁性効果を応用した糖鎖の動的立体構造解析
Paramagnetic-tagging approaches for exploring conformational dynamics of oligosaccharides
○山口 拓実^{1,2,3}, Zhang Ying^{1,2,3}, 山本 さよこ^{1,3}, 亀田 倫史⁴, 加藤 晃一^{1,2,3} (¹自然科学研究機構 分子科学研究所, ²総合研究大学院大学 物理科学研究科, ³名古屋大学大学院 薬学研究科, ⁴産業技術総合研究所 生命情報工学研究センター)
- P60 チオリン酸イオン群の酸解離および加水分解挙動の多成分同時解析
Simultaneous multicomponent analysis of the protonation equilibria and stepwise hydrolysis behavior of a series of thiomonophosphate anions by ³¹P NMR
○牧 秀志, 植田 佳樹, 成相 裕之, 水畑 穰 (神戸大学 大学院工学研究科)
- P61 ⁹Be NMRによる環状イミドリン酸イオン群の微視的錯生成平衡の定量解析
⁹Be NMR analyses on Be²⁺ microscopic complexation with a series of *cyclo-μ*-imido triphosphate anions in aqueous solution
○牧 秀志, 辻戸 正彦, 山田 哲司, 成相 裕之, 水畑 穰 (神戸大学 大学院工学研究科)
- P62 COSY法の新しい応用測定—BASHD-J-resolved COSY法について
BASHD-J-Resolved-COSY: A New Method for Measuring Proton-Proton Spin Coupling Constants of Multiplet Signals
○降旗 一夫¹, 田代 充² (¹東京大学大学院農学生命科学研究科, ²明星大学理工学部化学科)
- P63 ¹H-NMR法による親水性有機化合物水溶液中における水分子周辺ミクロ構造の考察
Study on microstructure of water-clusters in aqueous solutions of hydrophilic organic compounds by the method of ¹H-NMR technique
○春木 健作¹, 長谷部 亨² (¹福島大学大学院理工学研究科, ²福島大学共生システム理工学類)
- P64 **Y1** *In-situ* マイクロ波照射 NMR による物質の非平衡加熱状態の観測
Non-equilibrium heating state of substances as observed by in-situ microwave irradiated solid-state NMR
○田制 侑悟¹, 藤戸 輝昭², 川村 出¹, 内藤 晶¹ (¹横浜国立大学大学院 工学府, ²ブローブ工房)
- P65 多量子NMRによる¹H配列の次元性の研究
Dimensionality in Solid Materials studied by Multiple Quantum NMR
○最上 祐貴, 石川 洋人, 竹腰 清乃理 (京都大学大学院 理学研究科)
- P66 **Y1** デュアルレシーバシステムを用いた同種核及び異種核間2次元相関 covariance NMR
Homo- and Heteronuclear two-dimensional covariance solid-state NMR spectroscopy with a dual-receiver system
○日下部 寧¹, 野田 泰斗¹, 福地 将志², 武田 和行¹, 竹腰 清乃理¹ (¹京都大学大学院理学研究科, ²京都大学化学研究所)
- P67 二重および三重回転照射を用いた異種核¹Hデカップリング
Heteronuclear ¹H-Decoupling using Double / Triple Nutation
○脇坂 朝人, 武田 和行, 竹腰 清乃理 (京都大学大学院 理学研究科)
- P68 DARR照射下での¹³C-¹³C交換速度の計算
¹³C-¹³C Exchange Rate under DARR
○大橋 竜太郎, 笹川 匡裕, 水野 元博 (金沢大学大学院自然科学研究科)

- P69 **In operando** 固体NMR測定システムの開発とそれを用いた分子クラスター電池の電池特性の解明
Development of *in operando* solid-state NMR system and its application to high-performance molecular cluster batteries
○山田 哲也^{1,2}, 藤田 将史³, 吉川 浩史³, 阿波賀 邦夫^{1,2} (¹名古屋大学 物質科学国際研究センター, ²CREST, ³名古屋大学大学院 理学研究科)
- P70 超偏極 ¹²⁹Xe NMRによる多孔質上吸着相の解析
Adsorption Property of Xenon Gas on Mesoporous Materials using Hyperpolarized ¹²⁹Xe Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
○服部 峰之 (産業技術総合研究所 電子光技術研究部門)
- P71 MAS下の¹⁹F-¹³C交差分極における¹⁹F化学シフト異方性の影響
The effect of ¹⁹F chemical shift anisotropy on ¹⁹F-¹³C cross-polarization under magic angle spinning (MAS)
○神原 孝之, 武田 和行, 竹腰 清乃理 (京都大学大学院 理学研究科)
- P72 **Y1** 重水素固体NMRによる脂質ラフトにおけるスフィンゴミエリンの運動性解析
²H Solid State NMR Studies on the Mobility of Sphingomyelin in Lipid Rafts
○安田 智一¹, 山口 敏幸², 土川 博史¹, 松森 信明¹, 村田 道雄^{1,2} (¹大阪大学大学院理学研究科, ²JST-ERATO)
- P73 固体NMR法を用いた生理的環境での膜蛋白質pHtrIIの構造解析
Solid-state NMR structural analysis of transmembrane halobacterial transducer pHtrII under physiological environment
○江川 文子¹, 池田 恵介^{1,2}, Lili Mao³, 林 ころろ⁴, 児嶋 長次郎¹, 井上 正順³, 藤原 敏道¹ (¹大阪大学蛋白質研究所, ²富山大学大学院医学薬学研究部, ³ニュージャージー医科大学, ⁴奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)
- P74 **Y1** 生体分子の¹H精密位置決定~超高速MAS¹H固体NMRによる¹H DQMAS測定とGIPAW化学シフト計算~
Determination of precise ¹H geometry in Biomolecules -¹H solid state NMR analysis by ¹H DQMAS under ultra high speed MAS and GIPAW chemical shift calculations.-
○矢澤 宏次¹, 鈴木 不律², 西山 裕介³, 西村 勝之⁴, 梶 弘典², 朝倉 哲郎^{1,3} (¹東京農工大学大学院工学府, ²京都大学化学研究所, ³JEOL RESONANCE, ⁴分子科学研究所)
- P75 固体NMRを用いたヌクレオソームにおけるヒストンH2Aの構造解析
Structural analysis of histone H2A in nucleosome using by solid-state NMR
○戸所 泰人¹, 森脇 義仁¹, 長土居 有隆¹, 立和名 博昭², 胡桃坂 仁志², 西村 善文¹ (¹横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科, ²早稲田大学理工学術院)
- P76 **Y1** In-situ光照射固体NMRによるバクテリオロドプシン光中間体の捕捉
Trapping of photo-intermediates in bacteriorhodopsin as studied by in-situ photo-irradiated solid-state NMR
○宮佐 亮太¹, 川村 出¹, 辻 暁², 内藤 晶¹ (¹横浜国立大学大学院 工学府, ²兵庫県立大学大学院 生命理学研究科)
- P77 固体NMRにおけるタンパク質連鎖帰属へのGFT NMR法の応用
Application of GFT-NMR for sequential assignment of proteins in solid state
○田巻 初¹, 江川 文子², 神谷 昌克¹, 菊川 峰志¹, 相沢 智康¹, 河野 敬一¹, 藤原 敏道², 出村 誠¹ (¹北海道大学大学院 生命科学院, ²大阪大学 蛋白質研究所)
- P78 Pradimicin Aとマンノースとの結合様式の固体NMRによる精密解析
Solid-State NMR Analysis of the Binding Mode of Pradimicin A with Mannose
○土井 崇嗣¹, 中川 優², 伊藤 幸成^{2,3}, 五十嵐 康弘⁴, 竹腰 清乃理¹ (¹京都大学大学院 理学研究科, ²理化学研究所 基幹研究所, ³JST ERATO, ⁴富山県立大学 生物工学科)
- P79 固体NMRを用いた温度および圧力に対するバクテリオロドプシンの構造変化の解析
Temperature and pressure induced structural changes in Bacteriorhodopsin as studied by solid-state NMR
○川村 出¹, 堀籠 美也子¹, 西川 大英¹, 田島 可奈¹, 沖津 貴志², 和田 昭盛², 辻 暁³, 岩佐 達郎⁴, 内藤 晶¹ (¹横浜国立大学大学院工学府, ²神戸薬科大学, ³兵庫県立大学, ⁴室蘭工科大学)

- P80 **Y2** 固体NMRを用いたインドメタシン-ニコチンアミド共結晶における分子間水素結合の同定
Identifying the mode of intermolecular hydrogen-bonding in an indomethacin-nicotinamide cocrystal by multinuclear solid-state NMR spectroscopy
○丸吉 京介¹, Dinu Iuga², Oleg N. Antzutkin^{2,3}, Sitaram P. Velaga⁴, Steven P. Brown² (¹第一三共株式会社 分析評価研究所, ²ウォーリック大学 物理学科, ³ルーレオ工科大学 化学科, ⁴ルーレオ工科大学 保健科学科)
- P81 Cryocool MASプローブによる固体有機物の³³S NMR測定にむけて
Toward ³³S MAS NMR of organic materials by using a cryocool MAS probe
○松尾 真嗣¹, 水野 敬², 野田 泰斗¹, 増田 裕一³, 竹腰 清乃理¹ (¹京都大学大学院理学研究科, ²株式会社 JEOL RESONANCE, ³東北大学大学院薬学研究科)
- P82 **Y2** 非晶化セルロースのCP/MAS ¹³C NMR解析
CP/MAS ¹³C NMR analysis of non-crystallized cellulose
○高橋 壘¹, 田中 篤史¹, 五十嵐 一暁², 堀井 文敬³ (¹花王(株) 解析科学研究所, ²花王(株) エコイノベーション研究所, ³福井大・遠赤外領域開発研究センター)
- P83 MQMAS法による高分子-Al錯体の研究
MQMAS NMR studies on polymer complexes with Al ion
○平沖 敏文, 藤江 正樹 (北海道大学大学院工学研究院)
- P84 **Y2** 固体NMRによるセメント硬化体の化学構造および水和・硬化プロセスの解析
Analysis of Chemical Structure, and Hydrating and Hardening Process of Cement Paste Using Solid State NMR
○高橋 貴文¹, 古瀬 佑馬², 大窪 貴洋², 金橋 康二¹ (¹新日鐵住金(株) 先端技術研究所, ²千葉大学大学院 工学研究科)
- P85 魚類資源の多様性比較代謝プロファイリングに向けた条件検討
Examining of comparative metabolic profiling of diversified fish resources for effective utilization
○星野 玲緒奈¹, 葭田 征司¹, 伊達 康博^{1,2}, 菊地 淳^{1,2,3,4} (¹横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科, ²理化学研究所 植物科学研究センター, ³理化学研究所 バイオマス工学研究プログラム, ⁴名古屋大学大学院生命農学研究科)
- P86 **Y2** 固体NMRによるゴム材料の構造解析
Solid-state NMR structural study of rubber materials
○宇川 仁太, 清水 敏喜, 酒井 秀之 (東洋ゴム工業株式会社)
- P87 常磁性ポリ酸の固体⁹⁵Mo NMR
Solid-State ⁹⁵Mo NMR of a Paramagnetic Polyoxomolybdate
○飯島 隆広¹, 山瀬 利博^{2,3}, 丹所 正孝⁴, 清水 禎⁴, 西村 勝之¹ (¹分子科学研究所, ²東京工業大学, ³MO デバイス, ⁴物質・材料研究機構)
- P88 **Y2** マイクロプローブ固体NMRによるLED部材の劣化分析
Degradation Analysis of LED package by solid-state NMR using micro probe
○三好 理子, 石田 宏之, 三輪 優子 ((株)東レリサーチセンター)
- P89 システインに保護されたマジックサイズCdSeクラスターの多核固体NMR
Multinuclear Solid State NMR of Cysteine Capped Magic-Sized CdSe Clusters
○澤上 勲¹, 野田 泰斗^{2,3}, 武田 和行¹, 竹腰 清乃理¹ (¹京都大学大学院 理学研究科 化学専攻, ²JST・先端)
- P90 **Y2** ²⁷Al, ¹⁷O MQMAS NMR法を用いたUSYゼオライトの局所構造解析
Local structural characterization of am-monium-treated USY zeolite using ²⁷Al and ¹⁷O MQMAS NMR
○上口 憲陽¹, 真田 貴志^{1,2}, 芦田 淳³, 奥村 和² (¹株式会社日産アーク, ²鳥取大学, ³アジレント・テクノロジー株式会社)
- P91 同種核REDOR NMR法による層状複合材料中のゲスト分子包摂状態の研究
Homocuclear REDOR NMR study of the local arrangement of the guest molecules in layered nanocomposites
○櫻木 隆広¹, 桑原 大介² (¹電気通信大学 情報理工学研究科, ²電気通信大学 研究設備センター)

- P92 **YI** ゴム素材の静止状態固体¹³C NMR化学シフトと磁化率
Strain Induced Static State ¹³C NMR Chemical Shift and Magnetic Susceptibility of Rubbers
○北村 成史¹, 浅野 敦志¹, 畑 慶明², 安岡 宏², 黒津 卓三¹(¹防衛大学校応用化学, ²防衛大学校応用物理)
- P93 高圧水素シール用ゴム材料の水素膨潤挙動の解明
Study of volume expansion in rubber for high pressure hydrogen sealing in terms of dissolved hydrogen
○藤原 広匡¹, 西村 伸²(¹産業技術総合研究所 水素材料先端科学研究センター, ²九州大学大学院工学研究院機械工学部門)
- P94 **YI** ²H, ²⁷Al NMRによるアルギン酸ゲルのダイナミクス解析
Dynamics of alginate gels as studied by ²H, ²⁷Al NMR
○熊谷 翼秀, 大橋 竜太郎, 井田 朋智, 水野 元博(金沢大学大学院自然科学研究科)
- P95 アミノ基を持つ高分子における二酸化炭素によるゲルの生成
Characterization of gels from polymers which have amino group as a side chain and carbon dioxide as gellant
高木 健¹, 小林 未奈¹, ○前田 史郎¹, 国本 浩喜²(¹福井大学大学院工学研究科, ²金沢大学大学院自然科学研究科)
- P96 **YI** 多摂動二次元相関分光法
Multiple-perturbation Two-dimensional Correlation Spectroscopy
○新澤 英之, 西田 雅一, 兼松 渉(産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門)
- P97 トリメチルホスフィンオキシドを用いた固体表面の酸性質観測
Acid Properties of Solid Surfaces Probed by Trimethylphosphine Oxide
○林 繁信, 治村 圭子, 小島 奈津子(産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門)
- P98 固体NMRによる木質系材料の水蒸気処理過程の解析
Solid State NMR Study of Steam Treatments of Woody Materials
○西田 雅一¹, 田中 智子¹, 兼松 渉¹, 三木 恒久¹, 金山 公三¹, 伊藤 貴文²(¹産業技術総合研究所, ²奈良県森林技術センター)
- P99 ポリ乳酸系繊維の製造過程と劣化過程の解析評価
Instrumental Analyses of Manufacturing and Degradation Processes of Polylactic Acid Fibers
○西田 雅一, 新澤 英之, 田中 智子, 兼松 渉(産総研計測フロンティア(中部))
- P100 **YI** 固体NMRによるコハク酸水素イミダゾリウムのプロトン伝導メカニズムの研究
Mechanism of Proton Conduction of imidazolium succinate using Solid-State NMR
○海山 剛史, 大橋 竜太郎, 井田 朋智, 水野 元博(金沢大学大学院自然科学研究科)
- P101 Y-89 MAS NMRによる欠陥螢石型酸化物CeO₂-YO_{1.5}の局所構造解析
Local structure analysis of defect-fluorite oxide CeO₂-YO_{1.5} by Y-89 NMR
○安東 真理子¹, 及川 格¹, 前川 英己¹, 中村 彰夫², 高橋 正³(¹東北大学大学院 工学研究科, ²日本原子力研究開発機構, ³東邦大学理学部)
- P102 **YI** 逆螢石型リチウム二次電池正極材料の局所構造解析
Local Structure around Lithium Ions in Anti-Fluorite Type Positive Electrode for Lithium Ion Battery
○奥村 豊旗, 山口 洋一, 鹿野 昌弘, 小林 弘典(産業技術総合研究所)
- P103 固体NMRにおけるBEt₃Me塩を用いた柔粘性結晶の物性研究
Solid-State NMR Studies on Physical Property of New Plastic-Crystals Containing BEt₃Me Anions
○平川 悟¹, 本多 尚^{1,2}, 早崎 智之²(¹横浜市立大学 国際総合科学部, ²横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科)

- P104 水分子プローブを用いた表面処理カーボンブラックの固体NMRによる検討
Investigation of surface-treated carbon blacks using a water molecule probe by solid-state NMR
秦 弘一郎¹, ○出田 圭子², 大島 雄三¹, 宮脇 仁^{1,2}, 戸田 繁美³, 原田 竜介³, 持田 勲⁴, 尹 聖昊^{1,2}(¹九州大学総合理工学府 量子プロセス理工学専攻, ²九州大学先端物質化学研究所, ³東海カーボン株式会社, ⁴九州大学炭素資源国際教育研究センター)
- P105 多孔性金属錯体の細孔内におけるイオン伝導の拡散NMR法による評価
Diffusion NMR study on fast ion conducting coordination polymer
○犬飼 宗弘¹, 上坪 祐介², 堀毛 悟史^{2,3}, 福島 知宏², 北川 進^{1,2}(¹京都大学 物質-細胞統合システム拠点, ²京都大学大学院工学研究科, ³JST-さきがけ)
- P106 リチウムイオン電池正極材・電解質溶液間の反応についての考察
Study of Degradation of Lithium-ion Battery Cathode Material in Electrolyte Solution
○清水 俊介¹, 村上 美和², 竹腰 清乃理¹(¹京都大学大学院理学研究科, ²京都大学産官学連携本部)
- P107 In situ NMR測定によるLiCoO₂正極セルのリチウム挙動のその場観察
In situ NMR observation of the lithium extraction/insertion from LiCoO₂ cathode
○下田 景士¹, 村上 美和¹, 高松 大郊², 荒井 創¹, 内本 喜晴³, 小久見 善八¹(¹京都大学 産官学連携本部, ²日立製作所, ³京都大学 総合人間学部 人間・環境学研究科)
- P108 ポリ4-メチル-1-ペンテンの結晶相における気体輸送特性のNMRによる評価
Gas Transport Properties of Crystalline Phase of Poly (4-methyl-1-pentene) by NMR
○島崎 彩奈, 吉水 広明(名古屋工業大学大学院工学研究科)
- P109 3種類のメタクリルポリマーにおける局所分子運動性評価
A study on local molecular mobilities of three methacrylate polymers
○萬濃 香穂, 吉水 広明(名古屋工業大学大学院工学研究科)
- P110 **YI** MRIを用いた高温超伝導バルク磁石着磁過程の評価
Evaluation of the magnetization process in the high T_c bulk superconducting magnet using the MRI
○玉田 大輝^{1,2}, 仲村 高志^{1,2}, 巨瀬 勝美¹(¹筑波大学大学院 数理物質科学研究科 電子・物理工学, ²独立行政法人理化学研究所)
- P111 MRIを用いた湖沼底泥サンプルの撮像条件の検討
Visualizing 3D internal structure of lake sediments by MRI
○高屋 展宏, 渡邊 英宏, 高津 文人, 今井 章雄, 小松 一弘, 佐藤 貴之(国立環境研究所)
- P112 **YI** 地磁気MRIにおける送受信共振回路の不感時間低減による高感度化
Sensitivity enhancement of Earth's field MRI by reducing dead time of resonant circuit
○山根 知明, 赤羽 英夫, 糸崎 秀夫(大阪大学大学院 基礎工学研究科)
- P113 安定同位体標識技術を用いた土壌微生物叢の代謝動態の評価
Evaluating metabolic activity of soil microbiota by monitoring stable-isotopes from plants
○小倉 立己^{1,2}, 伊達 康博^{1,2}, 坪井 裕理², 菊地 淳^{1,2,3,4}(¹横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ²理化学研究所 植物科学センター, ³名古屋大学大学院 生命農学研究科, ⁴理化学研究所 バイオマス工学研究プログラム)
- P114 ¹H-NMRメタボロミクスの医療応用-その6-
透析治療廃液スペクトルの統計的パターン認識
Clinical Application of ¹H NMR Metabolomics-Part VI
Statistical Pattern Recognition of Dialysate Spectra in Hemodialysis
○新川 隆朗¹, 安藤 一郎¹, 高橋 征三¹, 今井 潤¹, 竹内 和久^{1,2}, 藤原 正子¹(¹東北大学薬学部薬学研究科, ²医療法人宏人会中央クリニック)
- P115 異種計測データプロセッシングによる水圏植物バイオマス評価の試み
Evaluation of plant biomass from hydrosphere by data processing of various analytical measurements
○伊藤 研悟¹, 坂田 研二², 伊達 康博^{1,2}, 菊地 淳^{1,2,3,4}(¹横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科, ²(独)理化学研究所植物科学センター, ³(独)理化学研究所バイオマス工学研究プログラム, ⁴名古屋大学大学院生命農学研究科)

- P116 深海底泥反応場を評価するための異種計測データマイニング
Data mining across heterogeneous measurements for evaluation of sediment ecosystems in the deep-sea area
○伊達 康博^{1,2}, 朝倉 大河², 坪井 裕理¹, 吉田 尊雄³, 丸山 正³, 菊地 淳^{1,2,4,5} (理化学研究所 植物科学研究センター, ²横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ³JAMSTEC, ⁴理化学研究所 バイオマス工学研究プログラム, ⁵名古屋大学大学院 生命農学研究科)
- P117 ¹H-NMR メタボロミクスの医療応用 その5 血清脂質の共通因子法によるスペクトル分解
Clinical Application of ¹H-NMR Metabolomics: Part V Spectral Separation of Saline Lipids by GRAM
○高橋 征三¹, 安藤 一郎¹, 今井 潤¹, 竹内 和久^{1,2}, 藤原 正子¹ (東北大学 薬学研究科, ²宏人会 中央クリニック)
- P118 Sf9細胞の in-cell NMRにおける測定条件の最適化
Evaluation of parameters for observing proteins inside living Sf9 cells by in-cell NMR spectroscopy
○田中 孝, 浜津 順平, 清和 恵美子, 池谷 鉄兵, 三島 正規, 伊藤 隆 (首都大学東京大学院 理工学研究科 分子物質化学専攻)
- P119 Nonlinear Sampling データに対する複数の信号再構成法の包括的な比較
A comprehensive comparison of multiple methods of signal reconstruction for NMR data nonlinear sampled
○山本 晃広¹, 池谷 鉄兵¹, 角越 和也², 三島 正規¹, 伊藤 隆¹ (首都大学東京大学院 理工学研究科, ²東京大学大学院 農学生命科学研究科)
- P120 **Y1** ラジオ波帯 NQR用直方体型コイルの内部磁場均一化
NQR using homogeneous magnetic field of Rectangular Cross-section RF coils
○桂 祥太¹, Jamie Barras², 赤羽 英夫¹, 糸崎 秀夫¹ (大阪大学大学院 基礎工学研究科, ²Department of Informatics, King's College London)
- P121 二面角系分子動力学計算を用いたタンパク質立体構造決定における構造最適化計算法の開発
Development of NMR structure refinement by torsion angle molecular dynamics in protein structure determination
○嶋崎 真那人¹, 池谷 鉄兵¹, 三島 正規¹, 伊藤 隆¹, Peter Güntert^{1,2} (首都大学東京大学院 理工学研究科, ²Goethe-University Frankfurt)
- P122 **Y1** 極推定法による FID 信号の強度推定
Intensity Estimation of FID signal by Pole Estimation Method
○中尾 朋喜¹, 末松 孝子², 堤 遊², 古川 利博¹ (東京理科大学 工学研究科, ²株式会社 JEOL RESONANCE)
- P123 化学シフトデータベースを利用した高精度な NMR 構造評価システム
A highly accurate NMR structure validation system using the chemical shift database
○小林 直宏, 児嶋 長次郎, 藤原 敏道 (大阪大学蛋白質研究所)
- P124 **Y2** 部位特異的アミノ酸選択標識とタンパク質立体構造を活用した相互作用界面の同定
Determination of Protein-Protein Interaction Surface based on Specific Atom Type Labeling and 3D Structure of the Protein
○小玉 優哉^{1,2,3}, Michael L. Reese⁴, 榛葉 信久¹, 小野 克輝^{2,3}, 金森 英司^{2,3,5}, Volker Dötsch⁶, 福西 快文², 鈴木 榮一郎¹, 高橋 栄夫^{2,7} (味の素(株), ²産総研・BIRC, ³バイオ産業情報化コンソーシアム, ⁴Stanford University, ⁵日立ソフトウェアエンジニアリング(株), ⁶University of Frankfurt, ⁷横浜市大・院生命ナノシステム)
- P125 X₀シムコイルの開発と MAS 角度の超微細操作
Improvement of X₀ Shim Coil for Precise Adjustment of the Magic Angle
○松永 達弥¹, 水野 敬², 竹腰 清乃理¹ (京都大学大学院理学研究科化学専攻, ²(株)JEOL Resonance)
- P126 **Y2** クライオ NMR を用いたポリオレフィンの末端二重結合定量法
Quantitation of Unsaturation in Polyolefins by NMR with a High Temperature Cryoprobe
○茂呂 ふみか, 佐藤 浩子, 恩田 光彦 (株式会社 三井化学分析センター 構造解析研究部)

- P127 1.03 GHz NMR用三重共鳴溶液プローブの開発
- 超1 GHz NMRを可能にする RF コイル形状 -
Development of triple resonance solution probes for 1.03 GHz NMR
- Design study of next generation RF coils over 1 GHz -
○高橋 雅人^{1,2}, 秋山 弘成², 高杉 憲司³, 長谷 隆司⁴, 柳澤 吉紀⁵, 中込 秀樹⁵, 大嶋重利⁶, 木吉 司⁷, 山崎 俊夫¹, 前田 秀明^{1,2} (理化学研究所 生命分子システム基盤研究領域, ²横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ³JEOL RESONANCE, ⁴神戸製鋼所, ⁵千葉大学大学院 工学研究科, ⁶山形大学大学院 理工学研究科, ⁷物質・材料研究機構 環境・エネルギー材料部門)
- P128 **Y2** 半導体レジスト用モデルポリマーの脱保護による分子運動性変化
Changes in the molecular mobility of model polymers for chemically amplified resist during de-protection reaction
○相見 敬太郎¹, 鈴木 真由美¹, 西山 文之², 西川 尚之³ (富士フイルム株式会社 R&D統括本部¹ 解析技術センター, ²エレクトロマテリアルズ研究所, ³有機合成化学研究所)
- P129 定量分析における NMR 装置に起因する測定不確かさの考察
Consideration of measurement uncertainty originating from NMR instrument in quantitative analysis
○齋藤 剛, 齋藤 直樹, 山崎 太一, 大手 洋子, 村上 雅代, 井原 俊英 (産業技術総合研究所 計測標準研究部門)
- P130 **Y1** NMR を用いた定量的元素分析
Quantitative elemental analysis by NMR
○一条 直規, 武田 和行, 野田 泰斗, 竹腰 清乃理 (京都大学大学院 理学研究科 化学専攻)
- P131 Cryocoil MAS 二重共鳴プローブの開発
Development of a ¹H-¹³C double-tuned Cryocoil MAS probe
○水野 敬¹, 戸田 充¹, 野田 泰斗², 竹腰 清乃理², 藤岡 耕治³ (株)JEOL RESONANCE, ²京都大学大学院 理学研究科 化学専攻, ³(株)クライオウェア)
- P132 **Y1** 高温超伝導薄膜の RF コイルを用いた 5 mm NMR 低温プローブの開発
- 高温超伝導薄膜の磁化による磁場均一性への影響 -
Towards an Ultra High Sensitivity 5mm-Cryogenic NMR Probe with high temperature superconducting (HTS) RF Coils-Effect of Diamagnetic Magnetization of the HTS thin film-
○金丸 朗¹, 古島 諒¹, 田中 佑斗², 大嶋 重利², 辻 成悟³, 田中 良二³, 末松 浩人³, 高橋 雅人^{1,4}, 前田 秀明^{1,4} (横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ²山形大学大学院 理工学研究科, ³株式会社 JEOL RESONANCE, ⁴理化学研究所 SSBC)
- P133 水圏植物バイオマスの多様性を評価するための異種データ統合解析
Integrated analysis based on heterogeneous measurements to evaluate diversity of the seaweed biomass
○坂田 研二¹, 伊藤 研悟², 伊達 康博^{1,2}, 菊地 淳^{1,2,3,4} (理科学研究所 PSC, ²理化学研究所 BMEP, ³横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ⁴名古屋大学大学院 生命農学研究科)
- P134 **Y1** マンガン造影 MRI による脳下垂体の活性化とホルモン分泌の研究
Study of pituitary cell activation and hormone secretion utilizing manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI)
○平金 真¹, 國領 大介², 寺沢 宏明¹, 青木 伊知男² (熊本大学大学院 薬学教育部 構造生命イメージング分野, ²放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター)
- P135 底質試料プロファイリング技術構築と水圏環境評価の試み
Metabolic profiling technique for the detritus analysis toward the evaluation of hydrosphere environment
○朝倉 大河¹, 葭田 征司¹, 伊達 康博^{1,2}, 菊地 淳^{1,2,3,4} (横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科, ²理化学研究所 PSC, ³理化学研究所 BMEP, ⁴名古屋大学大学院 生命農学研究科)
- P136 **Y1** マンガン造影 MRI 法による中枢神経障害モデルにおける炎症反応の検出
In vivo detection of neuroinflammation using manganese-enhanced MRI in CNS disorder model rats
○岩本 成人¹, 寺沢 宏明¹, 青木 伊知男² (熊本大学大学院 薬学教育部 構造生命イメージング分野, ²放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター)

チュートリアルコース

日時：11月7日(木) / Nov. 7, Thu.

会場：ウインクあいち (5F 小ホール1)
(受付 5F)

13:00 ~ 14:30

「2次元NMR：フーリエ変換と共分散」

竹腰 清乃理 先生 (京都大学大学院理学研究科 教授)

とある分子のNMR信号の帰属や合成高分子の単量体や生体高分子のアミノ酸・核酸の連鎖(2次元構造)から分子の3次元構造の決定、さらには、分子の運動やイメージングにと多次元NMR法の役割は大きい。本講義では、2次元交換NMR法を題材に、基礎原理と方法を解説する。また、発展として、その代表的な処理法であるフーリエ変換と近年提案されてそのメリットが実感されつつある共分散法について比較紹介する。

14:45 ~ 16:15

「MRIの基礎」

巨瀬 勝美 先生 (筑波大学大学院数理物質科学研究科 教授)

MRIの開発により、NMRの測定対象は、溶液や固体試料などの試験管に入った試料から、構造を持った任意の形状を有する試料(生体など)へと大きく拡大した。そして、それまでの分子構造などに関する情報から、生体の解剖学的構造や、疾患等に伴う化学的・物理的な変化の空間的構造など、従来のNMR手法ではアクセスできない空間的情報も得ることができるようになった。また、MRIによる医用診断は、医療では不可欠なものになっており、装置販売の市場だけでも、世界で年間3,000億円を超えている。本稿では、MRIの一般的な紹介ではなく、NMR分光計を使用している研究者がMRIを始めるときに必要な知識などを中心に、MRIの解説を行う。

16:30 ~ 18:00

「NMRはいかに創られたか：6. 固体高分解能NMRその2」

寺尾 武彦 先生 (京都大学 名誉教授)

教科書では長年にわたって積み重ねられた多数の研究結果が系統的に整理され、簡潔に淡々と記述されている。しかし、その行間には先人たちの汗と涙がにじみ、フィクションを超えるドラマが潜んでいる。本講演では時代を画したNMRの方法論の研究にスポットを当て、どのような時代背景の下でどういう人物が何をきっかけに歴史的な発想を得たのか、またどんな困難に出くわしてそれをどう解決して研究を完成させたかを人間的なエピソードを交えて話す。若い方々が話を通じて優れた科学者の研究に取り組む姿勢や学問に対する情熱を学んで頂ければ幸いです。今回は昨年引き続き固体高分解能NMRについて話す予定である。

ニュースレターの記録

1. 学会からのお知らせ

321号 (2011/04/13)

被災研究者へのNMR施設の提供について

先般発生した東日本大震災により、多くの方が命を落とされました。心よりご冥福をお祈りいたしますとともに、被災された皆様、ご家族、関係者の方々に、お見舞い申し上げます。現在、東北地方を中心に多くの研究機関等において、研究活動の継続が困難となっています。理化学研究所・生命分子システム基盤研究領域では、研究基盤を広く内外の研究者に提供していくことを大きなミッションの一つとしていることから、震災の直接的な影響により研究活動が困難になっている研究機関等に対して、研究支援を実施します。なお、本活動は「先端研究施設共用促進事業」にて補助いただいている文部科学省のご支援もいただき、横浜市立大学、大阪大学蛋白質研究所と連携して実施するものです。

○被災研究者の研究支援

「先端研究施設共用促進事業」の成果非占有利用枠

に被災研究者支援枠を設定して提供

○計画停電等で研究に困難をきたしている研究者の研究支援

理研内部利用枠の一部を研究困難者支援用に提供(理研事業利用枠(研究困難者支援)を新設)

支援内容の詳細は、施設のWebサイト(<http://www.ynmr.riken.jp/>)をご覧ください。

また、横浜市立大学、大阪大学蛋白質研究所の支援内容については、各機関のWebサイトをご覧ください。

●横浜市立大学〔先端研究施設共用促進事業〕

<http://www.yokohama-cu.ac.jp/res/kyoyo/>

●大阪大学蛋白質研究所

<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/>

以上

独立行政法人理化学研究所 NMR施設

332号 (2011/06/09)

会費の納入および身分や連絡先などの更新のお願い

謹啓

日本核磁気共鳴学会の学会員の皆様におかれましては、ますますご健勝のこととお慶び申し上げます。

さて、今年も評議員の選挙が近づいてまいりました。評議員の選挙権、被選挙権は会費を納入された会員にのみあります。なるべく多くの会員が選挙に参加していただけるよう、その選挙に先立ち、7月31日(日)までに、学会員の皆様におかれましては、「学会費の納入、および、身分や連絡先などの変更」のご確認を、どうぞよろしくお願い申し上げます。特に、新年度より学生会員から一般会員になられた方、所属の異動があった方、改組などともないメールアドレスのドメイン名などに変更があった方はご注意ください。また、会員サービスの一環として、会費が納入されている会員全員にNMR 討論会要旨集が事前に配布されます。このサービスを受けるためにも、是非会費の納入をお願いします。

以下に、操作の方法を簡単にご説明いたします。

(1) 日本核磁気共鳴学会のホームページに入ってください。

<http://www.nmrj.jp/> (2011年4月よりURLが変わっておりますのでご注意ください。)

(2) 「入会・会員ページ」をクリックしてください。次に、「会員専用ページ」をクリックすると、会員システムに移ります。

(3) 「会員ID」と「会員パスワード」を入力してください。

これらをお忘れの方は、そのページの指示を参照してください。

(4) 「登録内容 確認・変更」にて情報の更新、「会費納入」にて納入状況をご確認いただけます。

会費の納入および身分や連絡先などの更新は、選挙権の資格にとってたいへん重要です。有資格者名簿を8月1日(月)付にて作成したいと存じますので、前日までに上記をご確認いただけますよう、重ねてお願い申し上げます。

敬白

2011年6月9日

日本核磁気共鳴学会会長 嶋田一夫

西岡篤夫先生のご逝去のお知らせ

西岡篤夫東京工業大学名誉教授は2012年2月8日に92歳でご逝去されました。

西岡篤夫先生は1943年東京帝国大学工学部電気工学科卒業後、電気通信省電気試験所入所されました。戦後電気試験所(改組後電信電話公社)において通信用材料としての高分子を中心として基礎研究を行なわれた後、NMR装置を試作し、NMRを用いた高分子の構造とダイナミクスの研究を展開され、高分子のNMRの分野で大きな貢献をされてきました。特に1960年、西岡先生はF. A. Boveyら、U. Johnsenらとは独立に、ラジカル重合およびアニオン重合で得られたポリ(メタクリル酸メチル)の60MHz高分解能¹HNMRスペクトルを測定し、 α -CH₃基が3本のピークに分裂することを発見するとともに、これらのピークが高磁場からrr, mr, mmトリアドの立体規則性構造に由来する

ことを解明されました。当時、高分子の立体規則性構造の詳細な解析は困難な状況でしたが、そのbreak-throughを成し遂げられた研究を契機に、NMRを用いた高分子構造解析を進め、先駆的高分子NMR分光学へと展開されました。1967年東京工業大学工学部高分子工学科の教授に就任され、研究室のメンバーとともに、NMRを用いた高分子の構造とダイナミクスの研究をさらに展開させ、高分子科学の発展に多大な貢献をされてきました。西岡先生は、第1回NMR討論会から参加され、1978年第17回NMR検討会世話人をされるなどNMR学会にも大きな貢献をされてきました。先生の多大な業績と貢献をたたえて深く追悼の意を表します。

(安藤勲 東京工業大学名誉教授)

平成24年度NMR施設外部利用課題募集のお知らせ

横浜市立大学NMR施設外部利用は、NMR施設の一部を外部解放し、共用を推進する制度であり、文部科学省「先端研究施設共用促進事業」の補助を受け実施しています。

NMRの利用経験は問いません。利用に係る様々な支援もありますので、ぜひご利用下さい。

募集する利用区分

- (1) 成果占有利用(有償利用)
- (2) 成果非占有利用(有償利用・割引)
- (3) トライアルユース(無償利用)

※ トライアルユースについては、これまでNMRを利用したことがない利用者・利用分野とし、産業界のみの利用に限ります。

開放するNMR装置

- (1) 900MHz 固体NMR
- (2) フロー型クライオプローブ装置付 700MHz LC-NMR

利用場所

本学鶴見キャンパスNMR実験棟
横浜市鶴見区末広町1-7-29

募集期間

平成24年2月21日(火)～平成24年3月9日(金)

詳細等

詳しい内容及び応募書類等は、「平成24年度利用課題公募要領」を下記からダウンロードしてご覧ください。

http://www.yokohama-cu.ac.jp/res_pro/collaboration/nmrkyoyo_24koubo1.html

お申し込み・お問い合わせ:

公立大学法人横浜市立大学 研究推進課

〒236-0027 横浜市金沢区瀬戸22-2

TEL: 045-787-2404 FAX: 045-787-2025

E-mail kenkyu@yokohama-cu.ac.jp

本学HP: http://www.yokohama-cu.ac.jp/res_pro/collaboration/nmrkyoyo_24koubo1.html

共用ナビ: <http://kyoyonavi.next.go.jp/topics/career>

横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科
教授 西村善文

平成24年度 理研NMR施設外部利用課題の募集(第1回)

1. 概要

独立行政法人理化学研究所では、横浜研究所のNMR施設が培ってきた技術開発、施設設備、人材育成、解析体制などの成果を、広く国内外の企業や研究機関に対して、研究開発技術基盤として提供することにより、科学・産業全般の発展に貢献することを目指

しています。

当施設は、多彩な高性能NMR装置の利用時間提供にとどまらず、豊富な経験と知識を備えた技術指導研究員による試料調製支援、測定技術指導・支援、データ解析指導・支援やコンサルティングなど、多彩な利用者支援を実施しており、利用者は、高性能NMR装

置を利用するだけでなく、NMRを用いた研究開発に関する教育、技術指導にいたるまで一貫した支援を受けることができます。

なお、本事業は文部科学省「先端研究施設共用促進事業」に採択され経費の一部が補助されており、同事業に同じく採択された横浜市立大学並びに大阪大学蛋白質研究所と連携して事業を実施しています。

2. 利用形態

今回募集を行うのは次の三形態です。

- (1) トライアルニュース(無償)
- (2) 成果占有利用(有償)
- (3) 成果非占有利用(有償:割引料金適用)
(被災研究者支援については、別途ご相談ください。)

3. 応募条件

- ・ (1) について、産業界利用や産学官共同研究利用が対象となります。
- ・ (1) と (3) については、成果公開が条件となります。

・ (1) については、利用期間は平成24年度内に限りません。

詳しい応募条件は酵母要領でご確認ください。

4. 募集期間

平成24年2月21日から平成24年3月9日まで
(2) に関しては、随時受け付けています。

5. 応募方法その他詳細

http://www.ynmr.riken.jp/external_docs/external_h24-1.html をご覧下さい。

6. お問い合わせ先

独立行政法人 理化学研究所 横浜研究所
研究推進部 NMR施設開放担当
E-mail: nmrkaihou@yokohama.riken.jp

理化学研究所 生命分子システム基盤研究領域
木川隆則

Paul Callaghan 博士ご逝去のお知らせ

ニュージーランドの著名なNMR研究者である Paul Callaghan 博士が2012年3月24日に癌のために亡くなりました。博士はNMRを使った材料研究、NMR顕微鏡開発等で多くの業績をあげられるとともに、International Society of Magnetic Resonance (ISMAR) の前会長を務められるなど、NMRコミュニティーに多大な貢献をされました(下記 ISMAR 会長のメッセージをご参照下さい)。

ここに深い哀悼の意を表します。

日本核磁気共鳴学会理事会

Sir Paul Callaghan 1947 - 2012

It is with great sadness that ISMAR announces that Sir Paul Callaghan died from cancer March 24, 2012 at the age of only 64. He was an eminent figure in science in New Zealand and in NMR of materials. He is most known for his pioneering work combining rheology and NMR to unravel the flow behaviour of complex systems such as liquid crystals and polymer melts. These developments reach far beyond NMR and clearly represent landmarks of our field. His book on NMR Microscopy is a classic. He was a brilliant lecturer and gave remarkably clear, incisive talks at meetings; as a result, he was highly sought as a plenary speaker. His achievements have been recognized by numerous honours, prizes, and recognitions throughout the world.

Sir Paul Callaghan served as President of the International Society of Magnetic Resonance from 2008

to 2010 and did a tremendous job in this capacity. He initiated the concept of ISMAR Fellows in order to recognize eminent scientists in our field, and defined strategic goals for ISMAR's future. Though his severe illness often prevented him from travelling during his presidency, we were all extremely impressed by how much ISMAR mattered to him. Until very recently, no ISMAR action was taken without Paul's involvement and approval.

The International Society of Magnetic Resonance mourns its former President and Fellow of our Society. We feel privileged to have had the opportunity to work so closely with him for several years. On behalf of the Executive Committee and all the members of ISMAR, I express my deep gratitude.

Sir Paul's stature in science, teaching and economic development in New Zealand were covered quickly and substantially in the international press – e.g.

http://www.washingtonpost.com/world/sir-paul-callaghan-new-zealand-molecular-physicist-and-intellectual-dies-at-64/2012/03/24/gIQAPHGKXS_story.html

<http://www.stuff.co.nz/dominion-post>

We hold him in highest esteem and will express our appreciation at the upcoming ISMAR Conference to be held in Brazil next year.

Hans Wolfgang Spiess

2. NMR 討論会・チュートリアルコース

334号 (2011/07/01)

ISNMR2011 (第50回NMR討論会 記念国際シンポジウム)

参加登録・演題登録開始のお知らせ (ホームページ開設のお知らせ)

NMR 討論会ホームページ

<http://www.aeplan.co.jp/isnmr2011/>

今年のNMR討論会では、「第50回NMR討論会 記念国際シンポジウム」として、下記のとおり著名な先生方をお招きし開催します。11月15日～17日は英語による国際シンポジウムとし、最終日の11月18日は日本語によるNMR討論会とします。ぜひとも大勢の皆様方のご参加をよろしく願います。

会期：2011年11月15日(火)～11月18日(金)

会場：大さん橋ホール

<http://www.osanbashi.com/map/index.html>

実行委員長：西村善文(横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科)

招待講演者(予定)

11月15日

Richard R. Ernst(ETH, Switzerland ノーベル賞受賞者)

Kurt Wüthrich(ETH, Switzerland ノーベル賞受賞者)

John L. Markley(University of Wisconsin, USA)

Peter E. Wright(The Scripps Research Institute, USA)

小川 誠二(東北福祉大学 感性福祉研究センター)

甲斐 正恒

(名古屋大学 理学研究科 構造生物学センター)

11月17日(予定)

Gerhard Wagner (Harvard Med. School)

Tadeusz F. Molinski

(University of California, San Diego, USA)

Matthias Ernst (ETH, Switzerland)

Bong-Jin Lee (Seoul National University, Korea) 他

演題登録：2011年7月1日(金)～7月29日(金)

事前参加登録：2011年7月1日(金)～10月4日(火)

懇親会：11月17日(木)19:00～(予定)

近日中にチュートリアルコースの受付を開始予定です。

ISNMR2011 運営事務局(株式会社エー・イー企画内)

TEL: 06-6350-7163 FAX: 06-6350-7164

E-mail: isnmr2011@aeplan.co.jp

西村 善文

(横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科)

338号 (2011/07/22)

ISNMR2011 (第50回NMR討論会 記念国際シンポジウム)

演題登録締め切りのお知らせ

NMR 討論会ホームページ

<http://www.aeplan.co.jp/isnmr2011/>

演題登録の締め切りが7月29日(金)17:00に迫って参りましたので、再度ご案内させていただきます。なお、引き続き事前参加登録は10月4日(火)まで受付をしております。また、近日中にチュートリアルコースの参加受付も開始いたします。

ぜひとも大勢の皆様方のご参加をよろしく願います。

会期：2011年11月15日(火)～11月18日(金)

会場：大さん橋ホール

<http://www.osanbashi.com/map/index.html>

実行委員長：西村善文(横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科)

招待講演者(予定)

11月15日

Richard R. Ernst(ETH, Switzerland ノーベル賞受賞者)

Kurt Wüthrich(ETH, Switzerland ノーベル賞受賞者)

John L. Markley(University of Wisconsin, USA)

Peter E. Wright(The Scripps Research Institute, USA)

小川 誠二(東北福祉大学 感性福祉研究センター)

甲斐 正恒

(名古屋大学 理学研究科 構造生物学センター)

11月17日(予定)

Gerhard Wagner (Harvard Med. School)

Tadeusz F. Molinski

(University of California, San Diego, USA)

Matthias Ernst (ETH, Switzerland)

Bong-Jin Lee (Seoul National University, Korea) 他

演題登録：2011年7月1日(金)～7月29日(金)

事前参加登録：2011年7月1日(金)～10月4日(火)

懇親会：11月17日(木)19:00～(予定)

ISNMR2011 運営事務局(株式会社エー・イー企画内)

TEL: 06-6350-7163 FAX: 06-6350-7164

E-mail: isnmr2011@aeplan.co.jp

西村 善文

(横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科)

339号 (2011/07/29)

ISNMR2011 (第50回NMR討論会 記念国際シンポジウム)

演題登録締め切り延長のお知らせ

NMR 討論会ホームページ

<http://www.aeplan.co.jp/isnmr2011/>

第50回NMR討論会記念国際シンポジウムの発表演題登録の締め切りを、8月4日(木)17:00まで延長致します。

なお、引き続き事前参加登録は10月4日(火)まで受付をしております。

ぜひとも大勢の皆様方のご参加をよろしく願います。

会期：2011年11月15日(火)～11月18日(金)

会場：大さん橋ホール

<http://www.osanbashi.com/map/index.html>

実行委員長：西村 善文(横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科)

演題登録：2011年7月1日(金)～7月29日(金)→8月4日(木)17:00まで

事前参加登録：2011年7月1日(金)～10月4日(火)

懇親会：11月17日(木)19:00～ホテルモントレ横浜にて(予定)

※11月15日夕刻に大さん橋ホールにて、歓迎レセプションを予定しています。

ISNMR2011 運営事務局(株式会社エー・イー企画内)

TEL: 06-6350-7163 FAX: 06-6350-7164

E-mail: isnmr2011@aeplan.co.jp

西村 善文

(横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科)

348号 (2011/09/29)

ISNMR2011 (第50回NMR討論会 記念国際シンポジウム)

事前参加登録締め切りのお知らせ

第50回NMR討論会記念国際シンポジウムの事前参加登録の締め切りが10月4日(火)17:00に迫って参りましたので再度ご案内させていただきます。

ぜひとも大勢の皆様方のご参加をよろしく願います。

NMR 討論会ホームページ

<http://www.aeplan.co.jp/isnmr2011/>

チュートリアルコースの参加も現在受付中です。

<http://www.aeplan.co.jp/isnmr2011/tutorial.htm>

プログラムを公開しました。

<http://www.aeplan.co.jp/isnmr2011/program.htm>

会期：2011年11月15日(火)～11月18日(金)

会場：大さん橋ホール

<http://www.osanbashi.com/map/index.html>

実行委員長：西村 善文(横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科)

事前参加登録：2011年7月1日(金)～10月4日(火)

懇親会：11月17日(木)19:00～

ホテルモントレ横浜にて(予定)

※11月15日夕刻に大さん橋ホールにて、歓迎レセプションを予定しています。

ISNMR2011 運営事務局(株式会社エー・イー企画内)

TEL: 06-6350-7163 FAX: 06-6350-7164

E-mail: isnmr2011@aeplan.co.jp

西村 善文

(横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科)

3. 若手研究者渡航費助成

324号 (2011/04/26)

平成23年度第1回若手研究者渡航費助成の募集について

平成23年7月1日～平成23年10月30日に開催されるNMRに関連する国際会議に参加される若手研究者で渡航助成を希望する方を下記のとおり4月25日より募集します。なお今年度より、博士前期課程(修士課程)に在籍する方も本助成に応募できるよう資格を変更致しました。ふるってご応募下さい。

■ 応募資格

- ※ 応募時に会費納入済みの日本核磁気共鳴学会会員であり、35歳以下であること。
- ※ 大学院生、博士研究員、及びそれに準ずる者。
- ※ 他の旅費補助金を受けていないこと(本助成金で足りない部分を研究室等で補填するものは可とする)。
- ※ 所属する研究室において希望者を選考し、同じ国際会議に対して1名のみ応募すること。

■ 応募方法

1. 応募書類

- ※ 簡単な履歴書(生年月日、会員番号および学会発表・論文リスト含む)(書式は自由)
- ※ 国際会議の内容がわかる会議案内のコピーおよび会議HPのURL
- ※ 発表要旨(書式は自由)

上記のものを電子メールの添付ファイル(pdf形式またはWord形式)で若手研究者渡航費助成金選考委員長 加藤晃一(kkatonmr@ims.ac.jp)まで送付下さい。

2. 応募締め切り 5月31日(火) 締め切り厳守。

■ 選考方法 若手研究者渡航費助成金選考委員において若干名の援助金受領者を選考し、その結果を会長名で本人宛てに通知します。また受領者はNMR討論会において賞状をもって顕彰します。採択件数は年間5名程度とします。

■ 助成額 助成額：1件あたり10万円助成金の贈呈は参加報告書提出後となります。

詳細は学会ホームページ(<http://www.nmrj.jp/index.php>)をご覧ください。

参考のため、本期間に開催される主な国際会議のリストを下記にあげます。これ以外でも本助成の趣旨に

適合する国際学会であれば応募できます。

1. 53rd Rocky Mountain Conference on Analytical Chemistry (24-28 July 2011, Snowmass, Colorado, <http://www.rockychem.com/>)
2. ICMRM 2011 (14-18 August 2011, Beijing, China, <http://icrm11.cup.edu.cn/>)
3. EUROMAR 2011 joint with the 33rd Discussion Meeting of the MR Spectroscopy Division of the GDCh and 8th European Federation of EPR Groups Meeting (21-25 August 2011, Frankfurt am Main, Germany, <http://euromar2011.org/>)
4. Fall 2011 National Meeting & Exposition (28 August-1 September 2011, Denver, Colorado, http://portal.acs.org:80/portal/acs/corg/content?_nfpb=true&_pageLabel=PP_SUPERARTICLE&node_id=516&use_sec=false&sec_url_var=region1&__uuiid=b08f02a1-76b9-45fa-b7bd-d8e0de4b9357)
5. 4ECCLS (31 August-3 September 2011, Budapest, Hungary, <http://www.4eccls.mke.org.hu/>)
6. 59th International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (4-9 September 2011, Antalya, Turkey, <http://www.ga2011.org/>)
7. 7th Alpine Conference on Solid-State NMR (11-15 September 2011, Chamonix-Mont Blanc, France, <http://alpine-conference.org/>)
8. SMASH 2011 (18-21 September 2011, Chamonix, France, <http://www.smashnmr.org/main.asp>)
9. IRC MRI Conference 2011 (23-24 September 2011, Cincinnati, Ohio, <https://irc.cchmc.org/events/conference2011.php>)
10. ESMRMB 2011 (6-8 October 2011, Leipzig, Germany, http://www.esmrmrmb.org/index.php?id=en/index/esmrmrmb_2011_congress.htm)
11. The 4th Asia-Pacific NMR Symposium (11-15 October 2011, Beijing, China/Central Garden Beijing Hotel)

方を下記のとおり8月1日より募集します。なお今年度より、博士前期課程(修士課程)に在籍する方も本助成に応募できるよう資格を変更致しました。ふるってご応募下さい。

337号 (2011/07/19)

平成23年度第2回若手研究者渡航費助成の募集について

平成23年10月16日～19日に開催されるThe 4th Asia-Pacific NMR Symposium、並びに平成23年11月1日～平成23年2月29日に開催されるNMRに関連する国際会議に参加される若手研究者で渡航助成を希望する

■ 応募資格

- ※ 応募時に会費納入済みの日本核磁気共鳴学会会員であり、35歳以下であること。
- ※ 大学院生、博士研究員、及びそれに準ずる者。
- ※ 他の旅費補助金を受けていないこと(本助成金で足りない部分を研究室等で補填するものは可とする)。
- ※ 所属する研究室において希望者を選考し、同じ国際会議に対して1名のみ応募すること。

■ 応募方法

1. 応募書類

- ※ 簡単な履歴書(生年月日、会員番号および学会発表・論文リスト含む)(書式は自由)
- ※ 国際会議の内容がわかる会議案内のコピーおよび会議HPのURL
- ※ 発表要旨(書式は自由)

上記のものを電子メールの添付ファイル(pdf形式またはWord形式)で若手研究者渡航費助成金選考委員長 加藤晃一(kkatonmr@ims.ac.jp)まで送付下さい。

2. 応募締め切り 9月15日(木) 締め切り厳守。

■ 選考方法 若手研究者渡航費助成金選考委員において若干名の援助金受領者を選考し、その結果を会長名で本人宛てに通知します。

また受領者はNMR討論会において賞状をもって顕彰します。採択件数は年間5名程度とします。

■ 助成額 助成額：1件あたり10万円 助成金の贈呈は

参加報告書提出後となります。

詳細は学会ホームページ(<http://www.nmrj.jp/index.php>)をご覧ください。参考のため、本期間に開催される主な国際会議のリストを下記にあげます。これ以外でも本助成の趣旨に適合する国際学会であれば応募できます。

1. The 4th Asia-Pacific NMR Symposium (The 4th AP-NMR Symposium)(16-19 October 2011, Beijing, China, <http://asia-pacific-nmr.csp.escience.cn/dct/page/1>)
2. The 12th Pacific Polymer Conference (PPC12) (13-17 November, Jeju Island, Korea, <http://ppc12.org/>)
3. ANZMAG 2011 (27 November-1 December 2011, Torquay, Victoria, Australia, <http://anzmag2011.org.au/ANZMAG2011/Welcome.html>)
4. International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC 11) (2-5 December, Barcelona, Spain, http://www.qi.ub.es/isabc11/Welcome_.htm)

※ The 4th APNMR Symposiumの応募要項が第1回募集時には公開されていませんでしたので今回の募集対象とします。

350号 (2011/11/02)

平成23年度第2回若手研究者渡航費助成による “The 4th Asia-Pacific NMR symposium” 参加報告書

第2回若手研究者渡航費助成を受けて、平成23年10月16日から19日にかけて中国の北京で開催された“The 4th Asia-Pacific NMR symposium”に参加しましたので報告します。Asia-Pacific NMR symposiumは2年に一回行われるアジア、太平洋を中心とした各国のNMRに携わる研究者が集まり、NMRの最新技術やそれを利用した成果を発表する国際会議です。本会議に参加した目的は自身の研究を発表し他の研究者と議論を交わす事と国際会議という場で海外の研究者の講演を聞くことによってNMRに関する知見を深めることでした。

私は本会議では「Microwave heating of liquid crystals under *in-situ* microwave irradiation solid-state NMR」という題目でポスター発表しました。発表内容はマイクロ波照射固体NMR装置の開発とマイクロ波による試料の影響に関するものでした。この研究はNMRプローブの試料管にマイクロ波を加えることによって短時間の温度ジャンプやマイクロ波照射したときの分子の変化を調べたものです。私のような装置開発について発表した方は少なかつた印象を受けました。ポスター発表では幅広い分野の方に興味を持っていた

だき、これからの研究の指針に関わる重要な意見を聞くことができました。また海外の方と議論できたことも貴重な体験になりました。

研究の対象であり一番興味がある固体NMRを中心に講演を聞きました。Timothy A. Cross先生の固体NMRによる膜タンパク質の構造解析法など私にとって理解が難しい内容もありましたが、海外の研究者達のNMRを用いた様々なユニークな研究に触れることができ、NMRに対してあらゆる可能性を感じる事ができました。また、NMRについて深く考える良い機会にもなったと思います。

今年度から博士前期課程に在籍していても本助成を受けられることになり、研究者としてまだまだ未熟なところある私が本渡航費助成によってこのような有意義な学会に参加することができました。最後になりましたが、このような機会を与えてくださいました関係者の皆様に心から御礼申し上げます。

横浜国立大学 大学院工学府 機能発現工学専攻
博士課程前期2年

田制 侑悟

平成23年度第3回若手研究者渡航助成の募集について

平成24年3月1日～平成24年6月30日に開催されるNMRに関連する国際会議に参加される若手研究者で渡航助成を希望する方を下記のとおり12月1日より募集します。なお今年度より、博士前期課程(修士課程)に在籍する方も本助成に応募できるような資格を変更致しました。ふるってご応募下さい。

■ 応募資格

- ※ 応募時に会費納入済みの日本核磁気共鳴学会会員であり、35歳以下であること。
- ※ 大学院生、博士研究員、及びそれに準ずる者。
- ※ 他の旅費補助金を受けていないこと(本助成金で足りない部分を研究室等で補填するものは可とする)。
- ※ 所属する研究室において希望者を選考し、同じ国際会議に対して1名のみ応募すること。

■ 応募方法

1. 応募書類

- ※ 簡単な履歴書(生年月日、会員番号および学会発表・論文リスト含む)(書式は自由)
- ※ 国際会議の内容がわかる会議案内のコピーおよび会議HPのURL
- ※ 発表要旨(書式は自由)

上記のものを電子メールの添付ファイル(pdf形式またはWord形式)で若手研究者渡航費助成金選考委員長 加藤晃一(kkatonmr@ims.ac.jp)まで送付下さい。

2. 応募締め切り平成24年1月15日(日) 締め切り厳守。

■ 選考方法 若手研究者渡航費助成金選考委員会において若干名の援助金受領者を選考し、その結果を会長名で本人宛て通知します。

また受領者はNMR討論会において賞状をもって顕彰します。採択件数は年間5名程度とします。

■ 助成額 助成額:1件あたり10万円 助成金の贈呈は

参加報告書提出後となります。

詳細は学会ホームページ(<http://www.nmrj.jp/index.php>)をご覧ください。

参考のため、本期間に開催される主な国際会議のリストを下記にあげます。これ以外でも本助成の趣旨に適合する国際学会であれば応募できます。

1. BIT's 1st Annual Conference and EXPO of AnalytiX 2012 (23-25 March 2012, Beijing, China, <http://www.bitlifesciences.com/AnalytiX2012/default.asp>)
2. Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference (53rd ENC) (15-20 April 2012, Miami, Florida, <http://www.enc-conference.org/>)
3. NMR Valtice 2012, 27th Central European NMR Meeting (22-25 April 2012, Valtice, Czech Republic, <http://www.ncbr.muni.cz/nmrvaltice/>)
4. Frontiers in Biomolecular NMR (4-5 May 2012, Nashville, Tennessee, http://structbio.vanderbilt.edu/nmr/Symposium_2012/)
5. ISMRM 2012 20th Annual Meeting & Exhibition (5-11 May 2012, Melbourne, Australia, <http://www.ismrm.org/12/>)
6. 12th Chianti/INSTRUCT Workshop on BioNMR (17-22 June 2012, Montecatini Terme, Italy, <http://www.cerm.unifi.it/chianti12/>)
7. Metabolomics 2012 (25-28 June 2012, Washington DC, <http://www.metabolomics2012.org/>)
8. 11th International Conference on the applications of Magnetic Resonance in Food 2012 (MR in Food 2012) (26-29 June 2012, Wageningen, Netherlands, <http://www.mrfood2012.com/>)

さい。

詳細は学会ホームページ(<http://www.nmrj.jp/>)をご覧ください。

若手研究者渡航費助成金選考委員長 加藤晃一

平成23年度第3回若手研究者渡航助成の締め切り(1月15日) 迫る

平成24年3月1日～平成24年6月30日に開催されるNMRに関連する国際会議に参加される若手研究者で渡航助成を希望する方を募集しています。応募をお考えの方は1月15日までに必要書類を加藤までお送り下

さい。

若手研究者渡航費助成金選考委員長 加藤晃一

4. 共催事業・学会・会議等開催案内

新学術領域研究「天然変性タンパク質の分子認識と機能発現」

第二回若手育成講習会のご案内

NMRによるタンパク質解析法の基礎的理解(概論と実習)

新学術領域「天然変性蛋白質」では、第2回若手育成講習会として、「NMR実験から何が分かるか?」「NMRから得られたデータの解釈は?」など、NMRを専門としない研究者が天然変性タンパク質の研究においてNMRのデータを利用、理解するための講習会を企画しました。また並行して、NMRを専門とする若手構造生物学研究者が、NMR実験を効率よく応用し研究を進めていくために、具体的な手法を詳細に伝授すべく、実際にNMRを用いた実習を行います。

日時 2011年4月26日(火) 10:00～19:00

場所 大阪大学蛋白質研究所

定員 56名(うち実習班16名) 先着順

※ 実習班の残席が残り少なくなっております お早めにお申し込みください。

参加費 無料

企画 菅瀬謙治・廣明秀一

参加申し込み方法

下記の内容を明記の上、こちらのメールアドレスへ返信して下さい。hiroakih-coe@med.kobe-u.ac.jp

○タイトル

「天然変性蛋白質」第2回講習会参加申し込み

○メールの内容

・氏名

・所属

・職種(教授、准教授、講師、助教、ポスドク、大学院生(学年)、学部生、その他)

・希望班(実習を希望しない場合は、第1希望 講義班とご記入ください)

第1希望(実習班A・実習班B・講義班)

第2希望(実習班A・実習班B・講義班)

第3希望(実習班A・実習班B・講義班)

プログラム

	講義班 40名	実習班A 8名	実習班B 8名
午前の部	揺らいだ試料観測に特化したNMR技術		
10:00 ～10:30	廣明秀一(神戸大学) タンパク質の溶液NMR、基礎の基礎 (HSQCの見方)		
10:30 ～11:20	廣明秀一(神戸大学) 揺らいだ試料/IDP測定に特化したNMR講座1～スペクトルの見方、考え方～ water suppression, hetero NOE, H/D-exchange,		

11:20 ～12:10	菅瀬謙治(サントリー生命科学財団) 揺らいだ試料/IDP測定に特化したNMR講座2～構造変化の大きさと速度～ 化学交換とrelaxation dispersion、その他の緩和解析、		
12:10 ～13:10	昼食休憩		
午後の部 様々な試料を標的としたNMR技術の応用			
13:10 ～13:55	北原亮 (立命館大学) 「タンパク質の高エネルギー構造に注目した新しい構造生物学の展開」	NMR測定実習 講師 廣明・菅瀬 阪大蛋白研池上先生	(講義へ)
13:55 ～14:45	加藤晃一 (岡崎統合バイオサイエンスセンター) 「天然及び非天然変性状態にあるタンパク質のNMR研究の実際」		(講義へ)
14:45 ～14:55	休憩		
14:55 ～15:40	小林直宏 (大阪大学) 「NMRデータと構造アンサンブル、解析手法の基礎と応用」		(講義へ)
15:40 ～16:00	休憩		
16:00 ～17:45	ケーススタディと パネルディスカッション ・NMR研究者に質問したい ・NMR研究を導入したい ・NMR研究者と共同研究したい パネリスト(廣明、小林、他)		15:50～ NMR測定実習 講師菅瀬 阪大蛋白 研池上 先生
17:45 ～19:00	(かんたん)交流会		

NMR測定実習内容(A、B共通)

- 1) 基礎的なHSQC測定の原理とセットアップ、とくに水溶媒信号の消去に関連して
 - ・ Pre-saturation HSQC と watergate HSQC の両方を測定することで、溶媒に露出している部位や天然変性部位を簡単に知る
 - ・ 界面活性剤や他の生体成分混在下でHSQCをきれいに測定するためのコツ、パルスプログラムの改変など(標準のwatergate-HSQC と coherence-selection HSQCの違いやパラメータ設定のポイント、など)
- 2) HD交換実験などに重要なSOFAS-HMQC実験の

設定法などの実演	企画・文責
3) CLEANEX-PM 法を利用したプロトン交換実験の セットアップやデータ処理など	菅瀬謙治(公益法人サントリー生命科学財団生物有機 科学研究所)
4) 緩和時間の精密測定に重要な15N のパルス長の正 確な決定法など	廣明秀一(神戸大医学研究科)
5) その他	廣明秀一(神戸大学医学研究科構造生物学分野)

325号(2011/05/10)

先導的若手NMRスペシャリスト育成プログラム 第3回研修会

「先導的若手NMRスペシャリスト育成プログラム」は、文部科学省先端研究施設共用促進事業の支援を受け、溶液NMRの新規パルスプログラムの開発が可能なNMRスペシャリスト(次世代の若手リーダー)をシステマティックに育成する特別プログラムです。本プログラムは平成22年12月よりスタートし、約1年間にわたる全5回の研修会からなります。今回、第3回研修会の参加者を募集します。第3回研修会の詳細は下記をご参照下さい。

先導的若手NMRスペシャリスト育成プログラム
第3回研修会

世話人：大阪大学蛋白質研究所 児嶋長次郎、池上貴久、藤原敏道

共催：日本核磁気共鳴学会、日本分光学会、新学術領域「過渡的複合体」

後援：先端研究施設共用促進事業

協力：日本電子、アジレントテクノロジー、ブルカー

バイオスピ

URL：http://www.protein.osaka-u.ac.jp/biophys/ja_events.html

会期：2011年6月2日(木)～4日(土)

会場：琵琶湖リゾートクラブ(滋賀県守山市)

定員：45名

参加費：2万円(食費宿泊費を含む)

申込方法：

電子メールに必要事項(氏名、所属、連絡先、プログラクオオペレーターによる計算能力の有無)を記入し、児嶋(kojima@protein.osaka-u.ac.jp)までご送付下さい。

締切：2011年5月19日(木)、参加希望者が定員を超えた場合は先着順。

大阪大学蛋白質研究所

児嶋長次郎、池上貴久、藤原敏道

326号(2011/05/23)

よこはまNMR構造生物学研究会第42回ワークショップ 「NMR装置の現状と関連技術」

日時：2011年7月13日(水) 10:30～	12:40-13:40 (昼食：60分)
場所：理化学研究所横浜研究所 交流棟ホール (鶴見駅東口よりバス「ふれーゆ行」で理研市大 大学院前)	13:40-14:40 アジレント・テクノロジー株式会社 栗田 順一「アジレントの溶液NMR」 芦田 淳「アジレントの固体NMR」
10:30-10:40 はじめに	14:40-14:50 (休憩：10分)
10:40-11:40 株式会社神戸製鋼所 長谷隆司「金属系および酸化系超電導 線材の最新状況とNMRマグネットへの 適用」	14:50-15:50 株式会社JEOL RESONANCE 西山裕介「80kHzの超高速試料回転 solid- state NMR」
11:40-12:40 株式会社エムアールテクノロジー／岩谷 瓦斯株式会社 加川 勲「SCM用液体窒素再凝縮装置に ついて」	15:50-16:00 (休憩：10分)
高浜裕二「再凝縮装置用冷凍機の種類と 動作原理について」	16:00-17:00 ブルカー・バイオスピ株式会社 田村友美「最新NMR情報Bruker's NOW」
	17:00-17:10 おわりに
	17:30-19:30 懇親会
	主催・問合せ： よこはまNMR構造生物学研究会(代表：西村善文)

横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科
西村研究室内(鶴見キャンパス)
TEL：045-508-7216 FAX：045-508-7362
http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/ynmr/

横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科 教授
西村善文

327号(2011/05/26)

第12回若手NMR研究会参加登録受付開始のお知らせ

このたび第12回となりました若手NMR研究会では、『アミロイドのNMR解析』をテーマに、関連分野を研究されている講師の方々に大学、企業からお招きし、講義を行っていただきます。また本年度は、参加者によるショートトークセッションを2日目に設けております。みなさまの多数のご参加をお待ちしております。

日時：2011年6月23日(木)～25日(土)

場所：琵琶湖リゾートクラブ(滋賀県守山市)

主催：大阪大学蛋白質研究所 蛋白質構造形成研究室、
機能構造計測学研究室、構造プロテオミクス研
究系(代表：蛋白質構造形成研究室 柳 浩太郎)

ウェブサイト：

http://www.protein.osaka-u.ac.jp/biophys/wakatenmr/
参加費：¥20,000(宿泊費、懇親会費、食費、テキスト
代を含む)

申込方法：登録フォームに記入の上、wakatenmr_en-
try@protein.osaka-u.ac.jpまでお送りくだ
さい。ショートトークセッションへの参加
を希望される方は、登録フォームの連絡事
項欄にその旨をお書き添えください。

締め切り：2011年6月13日(月)まで。申し込みが定
員(80名)に達した場合、早めに締め切ら
せていただきますので、ご了承ください。

講演者の先生方：

詳細なプログラムはウェブサイト順次更新していま
す。

・6月23日(木)NMRの基礎と先端研究

児嶋長次郎先生(阪大・蛋白研)、廣明秀一先生(名
大・理・構造生物学研究センター)、亀田倫史先生
(産総研・生命情報工学研究センター)

・6月24日(金)巨大生体分子の解析

川村 出先生(横国大・工)、佐藤 毅先生(阪大・蛋
白研)、片平正人先生(京大・エネルギー理工学研究
所)、小沼 剛先生(サントリー)、矢木真穂先生(岡
崎統合バイオ)、茶谷絵理先生(神大・理)、前野覚
大先生(近大・生物理工)

・6月25日(土)NMRの先端機器

佐藤 一先生(ブルカー・バイオスピ)、藤原敏道先
生(阪大・蛋白研)

お問い合わせ先

大阪大学蛋白質研究所 蛋白質構造形成研究室
柳 浩太郎

Tel: 06-6879-8615 Fax: 06-6879-8616

Mail: wakatenmr2011@protein.osaka-u.ac.jp

大阪大学蛋白質研究所 機能構造計測学研究室

服部 良一

328号(2011/05/28)

日本分光学会 NMR講習会のお知らせ

日本分光学会では、溶液NMRの初級・中級者向け
の講習会を行います。今回は、講義と質疑応答に十分
時間をかけ、講義内容の十分な理解を目指します。多
数の方の積極的なご参加をお待ちしております。

主催：社団法人 日本分光学会

日時：平成23年7月20日(水) 10:00～18:00

場所：東京大学薬学部・西講義室(西館1階)

参加費：(会員・非会員ともに)一般10,000円、大学・
アカデミア5,000円、学生1,000円

プログラム：

10:00-12:00 廣明秀一(神戸大・院医系)

「NMRの原理 1D/2D-NMR」

13:30-15:30 伊藤 隆(首都大東京・都市教養学部)

「多次元NMRと測定時間を短縮するアプ

ローチ」

16:00-18:00 池上貴久(大阪大・蛋白研)

「タンパク質のNMR

—¹³C検出への期待—」

参加申し込み方法：

件名(Subject)を「NMR講習会参加申込」とし、メー
ル本文に(1)申込者氏名、(2)所属・所在地、(3)電
話番号、(4)FAX番号、(5)E-mailアドレス、(6)分
光学会会員か非会員かの別、(7)参加費区分(一般、大
学・アカデミア、学生)を記載して、event@bunkou.
or.jpまでe-mailでお申込み下さい。

事前参加申込締切：

7月14日(木)。締切後は当日参加も受け付けます。お問
い合せください。

参加費支払方法： 問い合わせ先：
 申込をさせていただいた方に、受付番号と振込金額を電子メールで連絡しますので、下記口座に振込みをお願いします。
 銀行振込口座 東京大学・大学院薬学系研究科
 みずほ銀行 神田支店 普通預金口座 0936378 大澤匡範
 口座名 社団法人日本分光学会
 郵便振替口座 記号 10160 番号 77806961
 口座名 社団法人日本分光学会
 参加費領収書は当日受付時にお渡しします。

331号 (2011/06/08)

理研NMRセミナー 2011のご案内

日時：平成23年6月28日(火)13:00～17:30 越野広雪(独立行政法人理化学研究所)
 場所：独立行政法人理化学研究所 鈴木梅太郎記念 15:00-15:30 休憩
 ホール 和光市広沢2-1 15:30-17:30 理研セミナー(共催)
<http://www.riken.jp/r-world/riken/campus/wako/index.html> 4. 千葉大学分析センターにおける教育、研究、研究支援および管理運営
 参加費：無料 関 宏子(千葉大学分析センター)
 プログラム 5. 基礎から解説するMRIの最新動向
http://www.riken.jp/mct/img/RIKEN_NMR_Seminer_2011_program.pdf 巨瀬勝美(筑波大学大学院数理物質科学研究科)
<http://www.riken.jp/r-world/research/symposium/index.html#seminer>
 13:00-15:00 ケミカルバイオロジー研究基盤施設教育 ミキサー：広沢クラブ 会費：3,000円/学生1,000円
 セミナー 問合せ先・参加申込先
 1. 分光計からみたNMR測定の基礎 〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1
 仲村高志(独立行政法人理化学研究所) 独立行政法人理化学研究所 基幹研究所 ケミカルバイ
 2. 固体・半固体NMRの基礎と活用 オロロジー研究基盤施設 物質構造解析チーム 越野広雪
 下池田勇一((株)JEOL RESONANCE) Tel 048-467-9361 Fax 048-462-4627
 3. NMRによる構造解析の基礎 E-mail: koshino@riken.jp
 -異性体判別の決め手-

333号 (2011/6/24)

新学術領域研究「過渡的複合体」公開シンポジウムのご案内

日時：平成23年7月21日(木)10:00～18:10(開場9:30) 早坂晴子(大阪大学)
 会場：東京大学薬学部 講堂(総合研究棟2F) 11:25-11:50 細胞死を司るミトコンドリア孔の解析
 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 清水重臣(東京医科歯科大学)
 (丸の内線・大江戸線 本郷三丁目下車) 11:50-12:15 マルチコンポーネント型薬剤排出蛋白質
 の機能解明 西野邦彦(大阪大学)
 10:10-10:35 NMRによるGPCR・リガンド相互作用解 析 (昼食)
 嶋田一夫(東京大学) 12:15-13:30 細胞膜上におけるトロンボポエチン受容
 体の一分子ダイナミクス 船津高志(東京大学)
 10:35-11:00 磁気共鳴を使った生細胞における分子動 態の計測手法の開発
 白川昌宏(京都大学) 13:30-13:55 ロドプシンをモデルとしたG タンパク質
 共役型受容体の二状態モデルの検討 七田芳則(京都大学)
 11:00-11:25 白血球、癌細胞の生体内動態調節におけ るケモカイン共働作用

14:20-14:45 生細胞での蛋白質の選択的ケミカルラベ ル化と機能化 高木淳一(大阪大学)
 浜地格(京都大学) 17:10-17:35 タンパク質の膜透過を促進する膜タンパ
 ク質SecDFの構造と機能
 14:45-15:10 細胞の局所刺激を可能にする機能性ケー ジド化合物の設計と合成 塚崎智也(東京大学)
 古田寿昭(東邦大学) 17:35-18:00 共有結合を用いた平衡シフトによる過渡
 的タンパク質複合体の安定化とその応用
 15:10-16:00 特別講演：酵母から見えて来たオート ファジーの分子機構 神田大輔(九州大学)
 大隅良典(東京工業大学) 18:30-20:30 懇談会：(総合研究棟1階ホール)
 会費 ¥1000(学生 ¥500)
 16:00-16:20 (休憩)
 16:20-16:45 X線1分子計測法によるイオンチャネル開 閉構造変化の計測 お問い合わせ：嶋田一夫(過渡的複合体事務局)
 清水啓史(福井大学) 東京大学大学院薬学系研究科
 Tel:03-5841-3198 E-mail: tmc@nmrlab.f.u-tokyo.ac.jp
 16:45-17:10 シナプスの構造と機能を規定する過渡的 接着装置複合体 東京大学大学院薬学系研究科 嶋田一夫

335号 (2011/7/06)

阪大 蛋白研セミナーのご案内

セミナータイトル： 研究では、He消費量の大きい超高磁場磁石、極低温
 「先端的NMR拠点から生まれる新たな潮流：最新成 プローブなどを用い装置は大型化し、一つの研究室で
 果、役割、利用」 維持するのは困難になってきている。さらに、最先端
 日時：2011年7月28日(木)～29日(金) の研究では、多くの専門分野での共同研究が必要に
 会場：大阪大学蛋白質研究所1階講堂 なってきているため、専門家が集まる拠点での応用、
 プログラム：<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/jpn/seminar/seminar/> 研究開発が重要になっている。本セミナーでは、それ
 蛋白研では、最先端の950MHzNMR装置の導入、 ら拠点で生み出される最新の成果、特徴を持たせた設
 高磁場DNP法の開発などにより感度・分解能が向上 備、役割を紹介して、NMR利用のさらなる発展、効
 し、より複雑な複合体や低濃度の蛋白質が解析可能に 率的な運用などについて議論する。
 になってきた。また、全国には他にも、特徴あるNMR 以上
 の応用・開発拠点があり、最先端の科学研究だけでなく 大阪大学 蛋白質研究所 藤原敏道
 広く産業界にも寄与している。一方、最先端のNMR

336号 (2011/7/11)

「NMRに関する技術相談会」のご案内

大阪学蛋白質研究所NMR装置群では、「先端核磁 ですし、またターゲット、(低分子か、タンパク質かな
 気共鳴の産業利用支援プログラム」事業を通じ、産 だ)も問いませんので、お気軽にご相談ください。
 界におけるNMRの利用を促進しています。当事業で 当事業に関する実施例等つきましては、7月28日(木)
 は、大阪学蛋白質研究所における最先端の性能をもつ に開催されます蛋白研セミナーでご紹介いたします。
 NMR装置を産業界に開放するだけでなく、課題ごと 尚、個別の部屋で対応を希望される場合には予めご
 の技術指導も行っております。つきましては、本年 連絡いただければ、対応いたします。
 度蛋白研セミナー後の下記日程におきまして、産業界 記
 のユーザを対象にNMRに関する技術相談会を開催い 日時：平成23年7月29日(金)13時半より16時半まで
 たします。(蛋白研セミナー後)
 初めに簡単な事業説明を行い、その後日頃疑問に感 場所：大阪学蛋白質研究7Fセミナー室
 じておられる技術的な案件(スペクトルのノイズが多 以上
 い、S/Nが悪い、信号が出ない、タンパク質の試料調 大阪学 蛋白質研究所 藤原敏道
 製方法など)に関してご相談に応じたいと思っております。溶液NMR、固体NMRのどちらの案件でも結構

平成23年度 日本分光学会年次講演会のお知らせ

開催日時：平成23年11月30日(水)～12月2日(金)
 場所：理化学研究所 横浜研究所 交流棟ホール
 (〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町1丁目7番
 22号)

事前参加申込：平成23年7月1日(金)～10月31日(月)

講演申込：平成23年7月1日(金)～9月5日(月)

要旨提出締切：平成23年10月11日(火)

ホームページ：

<http://www.bunkou.or.jp/events/info298.html>

今年度も年次講演会の中で国際シンポジウムを企画し、「生命・医療への分光光学の応用」を主題として、基礎と応用分野の交流を促進し、分光光学の発展を目指します。また、一般分野の講演でも口頭発表件数を増や

し、会員の日頃の研究成果を発表していただき、活発な年次講演会としたいと思います。最新の研究成果を発表し討論する場となっていますので、皆様の積極的な講演申込と参加をお願いいたします。

お問合せ：

〒101-0047

東京都千代田区内神田1-11-6 大丸アネックス201

社団法人 日本分光学会事務局

e-Mail：office@bunkou.or.jp TEL：03-3291-5221

横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科

西村 善文

第23回 高分子学会NMR講座

基礎と応用コース

＜趣旨＞NMR分光法は、高分子物質の構造解析の分野で最も有用な分析法となっています。高分子学会NMR研究会は1989年よりNMRに関心をもつ人、NMRを使用している人で最新の技術を学びたい人などを対象に、初心者を対象としたビギナーコースと経験者を対象としたアドバンストコースを開催してきました。本年もここ数年と同様、「基礎と応用コース」として、基礎的な解析に応用例も含め、実際のNMR測定上の問題点や注意点を含んだ内容で表記の講座を構成しました。普段何気なく使っているNMRパラメータの意味、応用する上で忘れてはならない基礎的な事項や測定の原理・応用技術、測定上の問題点や注意点などをNMRに日常的に携わる方々のためにわかりやすく解説します。また、参加申込者には、各講演で使用予定のスライド原稿をHP経由にて事前に閲覧可能とするサービスを実施いたしますので、経験の深浅を問わず多数のみなさまの受講を歓迎いたします。

主催：高分子学会NMR研究会

協賛：日本化学会

日時：平成23年10月13日(木) 10:00～17:30

会場：東京農工大学小金井キャンパス BASE本館講義室1-2(東京都小金井市中町2-24-16)

交通：JR中央線 東小金井駅下車徒歩10分

講演

10:00～11:00 (1)NMRイメージングの基礎と応用
 (東京海洋大名誉教授) 渡部 徳子

11:00～12:00 (2) 溶液NMRの基礎
 (群馬大院工) 浅川 直紀

12:00～13:00 昼食
 13:10～14:10 (3) 溶液NMRの応用
 (三菱化学科学技術研究センター)
 櫻井 愛子
 14:10～15:10 (4) 固体NMRの基礎
 (東京農工大) 矢澤 宏次
 15:10～15:30 ブレイク
 15:30～16:30 (5) 固体NMRの応用
 (防衛大応用化学) 浅野 敦志
 16:30～17:30 (6)NMRのハードウェア
 (アレジデント・テクノロジー) 芦田 淳

参加要領

1) 定員100名(定員になり次第、締め切らせていただきます。)

2) 参加費(税込)

①企業13,650円 ②大学・官公庁5,250円 ③学生2,100円 ④名誉・終身・フェロー・ゴールド・シルバー会員2,100円 ⑤NMR研究会メンバー (a) 企業10,500円 (b) 大学・官公庁4,200円

3) 申込方法：学会ホームページ(<http://www.spsj.or.jp/entry/>)からのお申込、または下記申込書に記入・FAXにて送付の上、参加費を10月末日までにご送金下さい。参加証、請求書(希望者のみ)を送付いたします。

4) 振込先：銀行振込<三菱東京UFJ銀行 銀座支店(普通) 1126232(社) 高分子学会>
 郵便振替<00110-6-111688(社) 高分子学会>
 振込手数料は振込人にてご負担くださいますようお願いいたします。

※ プログラムは予告なく変更になる場合がございます。予めご了承下さい。

(社) 高分子学会

第23回高分子学会NMR講座係

TEL 03-5540-3771 FAX 03-5540-3737

問合先

〒104-0042 東京都中央区入船3-10-9 新富町ビル6F

11-2 NMR 研究会

主題＝創立30周年記念講演会

－高分子のNMR, 30年を振り返りそして未来へ－

＜趣旨＞『高分子学会NMR研究会』が創立30周年を迎えます。1981年4月に中條利一郎先生(第1期委員長)、畑田耕一先生(第2期委員長)、(故)田中康之先生(第4期委員長)が「発起人・世話人」として会員の募集を始められ、第一回の研究会が当年5月31日に開催されています。その後、1981年～1988年は毎年2回の研究会、1989年以降は研究会に加えNMR講座(当初はNMRビギナー講座)が毎年開かれ、本年まで堅実かつ順調に活動を続けてまいりました。栄えある“創立30周年”を記念して、記念講演会を開催いたします。今回は、海外の研究者3名と歴代の委員長の先生方に研究紹介をいただくとともに、ポスター発表により参加者が相互の交流を深め、研究会のさらなる発展を期したいと考えます。

主催：高分子学会NMR研究会

協賛(予定)：日本化学会・日本核磁気共鳴学会・日本分析化学会

日時：2011年12月8日(木)～9日(金) 10:00～17:00

会場：東京工業大学・大岡山キャンパス・デジタル多目的ホール

〒152-8552 東京都目黒区大岡山2-12-1

<http://www.dst.titech.ac.jp/facilities-j.html>

特典：参加者・会員全員にNMR研究会30年間の研究会・講座要旨集のCDを贈呈します。

懇親会：12月8日18:00～19:30、蔵前会館ロイヤルブルーホール(講演会場から徒歩5分)

交通：東急大井町線・目黒線「大岡山」駅より徒歩約3分

プログラム

第1日＝12月8日(木)

<10:00～10:50>

1) NMR研究会の歴史と歴史のNMR

(東京文化財研究所) 中條 利一郎

<10:50～11:20>

2) 高分子の多様な高次構造の高度解析におけるNMR化学シフト

－構造相関の展開と歩み(東工大名誉教授) 安藤 勲

<11:30～12:00>

3) 高分子材料に関する固体NMR解析の発展

(福井大遠赤外センター・京大名誉教授) 堀井 文敬

<12:00～12:30>

4) 絹のNMR構造解析

(東京農工大) 朝倉 哲郎

<14:00～15:00>

5) Advanced Proton Low-Field NMR Approaches for the Study of Chain Dynamics and Confinement Effects in Polymer Melts and Elastomers.

(Martin-Luther-University, Germany) Kay Saalwächter

<15:00～16:00>

6) Solid-State NMR Studies on the Phase Structures and Segmental Dynamics Of PEO/Lithium Salt Polymer Electrolytes - Towards Understanding the Mechanism of Lithium Ion Transportation.

(East China Normal University, China) Qun Chen

<16:15～17:15>

7) Molecular Motions of Polymer Chains in Nanostructured Macromolecular Materials: Probing Interfacial Dynamics through ¹³C Solid-state NMR. (CNRS/Universite Paris XII, France) Cédric Lorthioir

<18:00～19:30> 懇親会

第2日＝12月9日(金)

<10:00～10:30>

8) 固体NMR法による高分子結晶構造解析

～化学構造の多様性と物理条件がもたらす分子レベルの高次構造～

(米・アクロン大) 三好 利一

<10:30～11:00>

9) 機能性含フッ素ポリマーの固体¹⁹F NMRによる構造解析

(東工大) 安藤 慎治

<11:00～11:30>

10) 無機高分子材料の固体NMR

～四極子核を中心に～

(新日鐵) 金橋 康二

<11:30～12:00>

11) 磁場勾配高速MASプローブを用いた固体NMR法によるエラストマーの構造解析

(長岡技科大) 河原 成元

- <13:10 ~ 13:30>
ポスター・プレビュー (1分/ポスター)
- <13:30 ~ 15:00> ポスター発表
- <15:00 ~ 15:30>
12) 分析の現場での溶液NMRの活用例
(帝人) 松田 裕生
- <15:30 ~ 16:00>
13) NMRスペクトルの多変量解析とDOSYを利用した
共重合体のキャラクタリゼーション
(徳島大) 右手 浩一
- <16:00 ~ 16:30>
14) 高分子と気体とNMR
(名工大) 吉水 広明
- <16:30 ~ 17:00>
15) NMRの高速化—固体NMRを中心に—
(アジレント) 芦田 淳

ポスター発表を同時募集します

申込要領

- 1) ポスター発表申込締切 平成23年10月28日(金)
- 2) ポスター発表申込は、<http://www.spsj.or.jp/entry/>の「11-2NMR研究会(発表募集)」よりお申込み下さい。次の情報が必要になります。①研究発表題目 ②所属・研究者名 ③連絡先(住所・電話・FAX・E-mailなど) ④プログラム編成は運営委員会にご一任下さい。
【申込み完了時に受理通知が届きます。届かない場合は電話(TEL 03-5540-3770)にてお問い合わせください。】
- 3) ポスター発表者は、研究発表要旨などの事前提出は不要です。ポスタープレビュー用の原稿(USBメモリに落としたPDFファイル)と下記サイズのポスターのみご持参ください。
- 4) ポスターパネルのサイズはA0縦サイズ(縦841mm 横1,189mm)です。貼付け道具(画鋏)はNMR研究会で用意します。

参加要領

- 1) 定員200名(定員になり次第、締め切らせていただきます。)
- 2) 参加費 ①企業10,500円 ②大学・官公庁5,250円 ③学生3,150円 ④名誉・終身・フェロー・ゴールド・シルバー会員3,150円 ⑤NMR研究会メンバー 無料

- 3) 懇親会費5,000円
 - 4) 申込方法 高分子学会ホームページ(<http://www.spsj.or.jp/entry/>)、または下記申込書をご利用の上、FAXにて送付後、参加費を12月末までにご送金下さい。参加証、請求書(希望者のみ)を送付いたします。
 - 5) 振込先: 銀行振込
三菱東京UFJ銀行 銀座支店(普通)1126232
郵便振替 00110-6-111688
名義(社) 高分子学会
振込み手数料は振込人にてご負担くださいますようお願いいたします。
- ※ プログラムは予告なく変更になる場合がございます。予めご了承下さい。

申込先

〒104-0042 東京都中央区入船3-10-9 新富町ビル
(社) 高分子学会 11-2NMR研究会係
TEL 03-5540-3770 FAX 03-5540-3737

347号(2011/9/20)

Masayori Inouye 教授講演会のお知らせ

この度、大阪大学蛋白質研究所にて、ニュージャージー医科大学の井上正順教授にご講演を頂く機会を得ました。先生は、アンチセンスRNAの発見者と

してご高名であり、コールドショック応答などの大腸菌ストレス応答研究において広く知られています。さらに先生はこれらの知見をNMR試料調製技術の開発

(pCold法やcSPP法など)に展開されておられます。皆様の積極的なご参加をお待ちしています。

蛋白質研究所特別セミナーのお知らせ

演題: What we learn from the bacterial apoptotic systems
講師: Masayori Inouye (The University of Medicine and Dentistry of New Jersey, USA)
日時: 2011年10月6日(木) 午前10時30分~午前11

時30分

場所: 大阪大学蛋白質研究所1階講堂(大阪府吹田市)
参加登録・参加費: 不要
URL: <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/jpn/topics/>
連絡先: 大阪大学蛋白質研究所機能構造計測学講座
児嶋長次郎、藤原敏道
06-6879-8598

大阪大学蛋白質研究所 児嶋長次郎、藤原敏道

349号(2011/10/12)

農研機構国際シンポジウム「農産物の安全・安心を支える高精度分析」

開催日時: 11月29日(火) 9:30-17:00(9:15 受付開始)
開催場所: ベルサール飯田橋ファーストホールA
主催: (独) 農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構) 食品総合研究所
参加申込み: <https://pursue.dc.affrc.go.jp/form/fm/naro106/kokusaisympo> (無料)
事前参加申し込み締め切り: 11月15日(火) 9:00
プログラム: <http://nfri.naro.affrc.go.jp/research/katsudo/pdf/2011/i-sympo20111129.pdf>

演題

- ・ New NMR Tools Combining Targeted and Non-targeted Screening for Food Quality and Safety Screening
Manfred Spraul (Bruker BioSpin GmbH, Germany)
- ・ Challenges in Metabolomics Addressed by Ultra-

High Resolution TOF-MS Technology

Aiko Barsch (Bruker Daltonics GmbH, Germany)

- ・ 質量分析による食の安全への貢献—微生物迅速同定とイメージング技術適用の可能性について—
尾島典行(島津製作所)
 - ・ バイオ質量分析の最前線—細胞リアルタイム質量分析法による植物分析—
升島努(広島大学、理化学研究所 生命システム研究センター)
 - ・ イネ穎果の高温登熟障害のMRIによる観察
石丸努(国際農林水産業研究センター)
- 他4題

農研機構食品総合研究所 吉田充

351号(2011/11/03)

6th International Meeting on Biomolecules under Pressure (IMBP 2011)

Dear Colleagues,

We are pleased to announce you all that the IMBP 2011, which was once postponed due to the melt-down of Fukushima nuclear plants in Japan, will be held soon on this December, 2011, at Otsu, Japan:

Date: December 12th-16th, 2011

Place: Otsu City former Public Hall, Otsu, Shiga, Japan

As has been planned previously, the meeting comprises the following academic sessions including educational lectures:

1. Revisiting Fundamentals of Volume, Compressibility and Expansivity
2. Internal Hydration and Conformational Fluctuation in Proteins
3. Exploring Energy Landscape and High-energy Conformers on Pressure Axis

4. Exploring Intermolecular Association on Volume and Pressure

5. Topics in Lipids, Membranes, Starch and Deep Sea Biology

Meeting schedule, in brief, is:

Dec 12 (Mon) evening: Informal Get-Together

Dec 13 (Tue) morning - Dec 16 (Fri) noon: Lectures and Research Presentations

Dec 14 (Wed) afternoon and evening: Study tour and Banquet

Your participation in the meeting is highly appreciated. Please make registration and submit your abstract not later than Nov. 20, 2011, by filling and sending the attached registration and abstract submission forms to imbp2011japan.regi.abst@gmail.com

We look forward to seeing you soon at Otsu !
With best regards,
Hideki Tachibana
Conference Chair, High Pressure
Protein Research Center, Kinki University

The organizing committee of 6th IMBP

International Scientific Advisory Board:
Catherine Royer (INSERM), Angel Garcia (Rensselaer Polytechnic Institute), Roger Fourme (SOLEIL, Saint Aubin), Hans-Robert Kalbitzer (Univ. Regensburg), Roland Winter (Univ. Dortmund), Kazuyuki Akasaka (Kinki Univ.)
Local Organizing Committee:
Hideki Tachibana (Kinki Univ.), Kazuyuki Akasaka (Kinki Univ.), Kunitsugu Soda (RIKEN), Kaoru Nakasone (Kinki Univ.), Yasushige Yonezawa (Kinki Univ.), Ryo Kitahara (Ritsumeikan Univ.), Akihiro Maeno (Kinki Univ.)

Conference Assistant: Akiko Jodai

Study tour: Hieizan Enryaku-ji (<http://www.hieizan.or.jp/pdf/english.pdf>)

Banquet: Hotel Koyo (Tentative)

Fee for banquet, excursion and social events:
Ordinary participant: JPY 20,000; Student: JPY10,000 (only cash in Japanese yen)

Access to Shiga (Otsu) area: <http://g.co/maps/ey7p>

From the nearest stations to Otsu City former Public Hall ("Otsu Kyu Kokaido")

(1) 1-minute walk from *Hama-Otsu* Station (Keihan Line)

(2) 15-minute walk from Ohtsu Station (JR Line). Or take a few min bus ride to *Hama-Otsu* (or one through *Hama-Otsu*) and get off at "Otsu Kyu Kokaido-mae" station (cost 100 yen).

From Kansai Airport to Shiga (Otsu) area

Kansai Airport > (Shin-Osaka) > Kyoto > Otsu
Take JR express train "Haruka" to Kyoto, starting every 30 min from Kansai Airport JR terminal (takes 1.5 h to Kyoto). Change to local train at Kyoto station to Otsu (2nd stop after Kyoto) at plat-home No.2 (takes 10 min).

Objectives

This will be a study and discussion meeting, in which we refocus on the fundamental aspects of the pressure perturbation on proteins in contrast to temperature and other perturbations and what crucial unknowns of proteins can be revealed by pressure. The fundamental knowledge gained in proteins is expected to be extended to other bio-macromolecules and living cells.

For this purpose, each session is arranged to begin with "easy-to-understand" educational lectures on fundamental principles and experimental techniques for beginning students and researchers in diverse disciplines. The educational lectures will end up with advanced research results, which will be followed by research results by individual researchers in front. Intense discussions among participants from different disciplines with varying methodologies are encouraged in an informal kind of atmosphere with a limited number of participants.

We believe that pressure-axis experiments will play a crucial role in basic (as well as applied) bioscience in 21st century, as it will disclose the hidden paradigm of protein structures that are crucially important for life to go.

353号 (2011/11/29)

理研シンポジウム「第12回分析・解析技術と化学の最先端」のご案内

日時: 平成23年12月13日(火)12:50~17:45	13:25-14:05 三好利一 The University of Akron, USA
場所: 独立行政法人理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール 和光市広沢2-1	固体NMR法による高分子結晶のミクロな世界
参加費: 無料	14:05-14:45 中島陽司 旭硝子・中研
	高分解能TOFMSによる機能性有機材料の詳細構造解析: 技術開発の実際と将来展望
プログラム	14:45-15:25 山下まり 東北大院農
12:50-12:55 開会の挨拶	LC/MSを用いた海洋天然物に関する最近の研究
12:55-13:25 西浦正芳 理研基幹研	休憩 15:25-15:45
新規希土類触媒の開発と高選択的高分子合成への応用	15:45-16:25 明石 知子 横浜市大

質量分析で観るタンパク質の姿
16:25-17:05 佐藤 寛子 国立情報研
ピラノシドのエキソ・エンド開裂反応に関する理論研究の最近の成果について
17:05-17:45 永野 真吾 鳥取大院工
インドロカルバゾール生合成酵素群の結晶構造から見えてきた生合成の仕組みと戦略
ミキサー: 理研 広沢クラブ 18:00~ 会費3,000円 学生1,000円

<http://www.riken.jp/mct/img/12th-RIKENsymposium-poster.pdf>
問合せ先・参加申込先
〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1 独立行政法人理化学研究所 基幹研究所 ケミカルバイオロジー研究基盤施設 物質構造解析チーム 越野広雪
Tel 048-467-9361 Fax 048-462-4627
E-mail: koshino@riken.jp

356号 (2011/12/19)

RRR workshop 2011/12のご案内

今回で13回目となります「RRR workshop」を2012年1月25-26日の日程で、首都大学東京秋葉原サテライトキャンパスにおいて、下記の要領で開催いたします。本ワークショップは若手NMR研究者が最先端の理論、方法を学び、今後の発展について討論する場を目指しています。

海外から、3人の講師、Frans Mulder、Charalampos Kalodimos、Oliver Langeを招待し、R₂ dispersionやRDCを用いたダイナミクス解析や、構造生物学への応用についてお話していただきます。国内からは池上貴久先生に、高磁場NMRの利用と¹³C直接観測などについて、お話していただく予定です。

皆様、大変お忙しい時期ではあると思いますが、グループ内の皆様にも本セミナーをお知らせ頂き、是非ご出席いただければと考えております。

期日: 2012年1月25日(水) - 26日(木)

時間予定: 1月25日 10:00-18:00、1月26日 9:30-19:30

場所: 首都大学東京秋葉原サテライトキャンパス (秋葉原ダイビル12階、JR秋葉原駅徒歩1分、http://www.tmu.ac.jp/university/campus_guide/access.html)

参加費: 500円 (テキストの作成費用)

事前参加登録不要

* 本ワークショップは新学術領域研究「過渡的複合体」(代表: 東大 嶋田一夫先生)の援助を受けて、開

催されます。

首都大学東京 理工学研究科 三島正規
サントリー生命科学財団 菅瀬謙治

358号 (2012/01/12)

International Symposium: Protein Dynamics and Function -NMR researches toward drug design- の案内

日時: 2012年1月30日(月曜日)
13:00時-17:00時
場所: 立命館大学びわこ・くさつキャンパス
エポック立命 K310

Invited talk 1
Frans A. A. Mulder/Interdisciplinary Nanoscience Center (iNANO) and Department of Chemistry, University of Aarhus, Denmark
"Moving targets: Studies of functional protein dynam-

ics by NMR spectroscopy”	tion”
Invited talk 2	Talk4
<u>Koh Takeuchi</u> /Biomedical Information Research Center National Institute of Advanced Industrial Science and Technology	<u>Ryo Kitahara</u> / Colleges of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University
“NMR approach to study and interfere with blood coagulation responses”	“Structure and Function of marginally populated states of proteins”
Invited talk 3	主催 難治性疾患・統合創薬プロジェクト
<u>Kazumasa Sakurai</u> /Institute for Protein Research, Osaka University	立命館大学 薬学部 北原 亮
“Applications of solution NMR techniques for the elucidation of the mechanism of the amyloid fibril forma-	E-mail : ryo@ph.ritsumei.ac.jp

立命館大学 薬学部 北原亮

359号 (2012/01/18)

よこはま NMR 構造生物学研究会 第43回ワークショップ
「計算科学とNMRの融合に向けて」

日時：2012年2月6日(月) 10:40～	15:30-16:20	北原 亮 (立命館大学 薬学部)
場所：理化学研究所横浜研究所 交流棟ホール (鶴見駅東口よりバス「ふれーゆ行」で理研市大大学院前)		「Structure and Function of NMR “invisible” states of proteins」
10:40-10:50	16:20-17:10	木寺 詔紀 (横浜市立大学 大学院生命ナノシステム科学研究科)
10:50-11:40	17:10-17:20	「京コンピュータによる生命計算科学」
11:40-12:30	17:30-19:30	おわりに
12:30-13:30		懇親会
13:30-14:20		主催・問合せ： よこはま NMR 構造生物学研究会 (代表：西村善文)
14:20-15:10		横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科 西村研究室内 (鶴見キャンパス)
15:10-15:30		TEL : 045-508-7530 FAX : 045-508-7362 http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/ynmr/

横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科 教授
西村善文

360号 (2012/01/22)

平成 24年度「先端核磁気共鳴装置群の産業利用支援プログラム」
利用課題募集について (第1回)

1. プロジェクト概要	産業利用のみです。
本プロジェクトでは、950、800MHz溶液NMRや700MHz固体NMRなど蛋白研NMR装置群の産業界からの利用を促進します。また有効かつ継続的にバイオ、化学、材料系などの産業界に供するため、課題ごとの技術指導、施設利用、課題解決という直接的なものだけでなく、産業利用を促進できる人材の育成と新たなニーズの創製を目指しています。	
2. 応募資格	3. 利用形態
	トライアルユース (無料)、成果非占有 (有料、割引料金適用)、成果占有 (有料)、トライアルユース講習会利用の四形態があります。「トライアルユース」、「成果非占有」でのご利用の場合、下記募集期間で利用課題を募集いたします。「成果占有」、「トライアルユース講習会利用」でのご利用の場合は、特に応募期間は設けておりませんので、随時ご連絡ください。

4. 募集期間	提出期限：平成24年2月10日(金)[必着]
平成24年1月13日から平成24年2月10日までの期間	提出先：〒565-0871 吹田市山丘3-2 大阪大学 蛋白質研究所 機能構造計測学研究室 先端核磁気共鳴装置群
5. 応募方法	産業利用支援プログラム担当 片平律子 (リエゾン)
応募書類：所定の申請書1部、NMR施設利用誓約書1部	連絡先 E-Mail nmrkaihou@protein.osaka-u.ac.jp
応募書類および募集要項は、 http://www.protein.osaka-u.ac.jp/biophys/sentan_kyoyo/index_new.html	大阪大学 蛋白質研究所 藤原敏道
から入手できます。	

362号 (2012/02/20)

よこはま NMR 構造生物学研究会第44回ワークショップ
「膜タンパク質および生体膜関連試料の機能・構造解析」

日時：2012年3月14日(水) 9:30～	膜タンパク質の構造・機能解析」
場所：理化学研究所横浜研究所 交流棟ホール (鶴見駅東口よりバス「ふれーゆ行」で理研市大大学院前)	15:10-15:30 (休憩：20分)
9:30-9:50	15:30-16:20
9:50-10:00	16:20-17:10
10:00-10:50	17:10-17:20
10:50-11:40	17:30-19:30
11:40-12:30	
12:30-13:30	
13:30-14:20	
14:20-15:10	

「創薬標的の膜タンパク質立体構造解析」
「外部刺激に応答する光受容膜タンパク質の構造変化の解析」
おわりに
懇親会
主催・問合せ：
よこはま NMR 構造生物学研究会 (代表：西村善文)
横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科
西村研究室内 (鶴見キャンパス)
TEL : 045-508-7530 FAX : 045-508-7362
http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/ynmr/
横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科 教授
西村善文

365号 (2012/03/05)

International Workshop
“from Structure to Dynamics: for Our Understanding of Protein-Protein Interactions”
のご案内

2012年3月16日(金)-17日(土)9:20~18:30	Kazuyuki Akasaka (Kinki Univ., Japan)
野依記念学術交流館 (名古屋大学・東山キャンパス)	Katsuzo Wakabayashi (Osaka Univ., Japan)
(Noyori Conference Hall, Nagoya Univ.)	Masao Miki (Fukui Univ., Japan)
Invited Speakers	Hideki Kandori (Nagoya IT, Japan)
Kenneth C. Holmes (Heidelberg, Germany)	Toshiaki Arata (Osaka Univ., Japan)
Larry Tobacman (Chicago, USA)	Satoru Fujiwara (JAEA, Japan)
Michael A. Geeves (Kent, UK)	Toshiro Oda (SPRING-8, Japan)
Piotr Fajer (Florida, USA)	Naoki Watanabe (Tohoku Univ., Japan)
David Popp (Singapore)	& ポスター発表 (演題募集中)
Steffen Wolf (Shanghai, China)	& 懇親会 19:00~(ホテルルブラ王山)

参加費：無料（ワークショップ）

いてもお知らせ下さい

可能な限り、事前参加登録をお願いします

事前参加登録、ポスター発表受付

高見潤子

E-mail: takami.junko@d.mbox.nagoya-u.ac.jp,

Phone & FAX: 052-747-6471

(事前参加登録時に、氏名及び所属とともに、下記につ

3月16日 昼食(要・不要)、懇親会(参加・不参加)

3月17日 昼食(要・不要)

組織委員会代表:

名古屋大学理学研究科附属構造生物学研究センター

前田雄一郎

連絡先 E-mail: ymaeda@cc.nagoya-u.ac.jp,

Phone: 052-747-6471

366号 (2012/03/13)

蛋白研セミナー「In cell NMR workshop 2012」のご案内

蛋白研セミナー「In cell NMR workshop 2012」では、国内外の蛋白質細胞内NMR計測(In cell NMR)を行っている研究者に、In cell NMRの技術的背景、細胞毎の計測技術の実例、細胞内での蛋白質の立体構造決定法、などをご講演いただくとともに、哺乳動物細胞を用いたIn cell NMR実験のデモンストレーションを行います。皆様方の積極的なご参加をお待ちしております。

共催：新学術領域「過渡的複合体」

日時：2012年3月27(火)～28日(水)

場所：大阪大学蛋白質研究所、一階講堂、NMR実験棟

<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/jpn/access/>

参加費：無料(懇親会2000円)

申込方法：(講演)事前登録不要

(デモンストレーション)参加希望者は3月26日までに所属と氏名を見嶋

(kojima@protein.osaka-u.ac.jp)までご連絡下さい。

蛋白研セミナー「In Cell NMR Workshop 2012」

http://www.protein.osaka-u.ac.jp/biophys/ja_events.html

主催：大阪大学蛋白質研究所、JST戦略的国際科学技術協力推進事業

京都大学大学院工学研究科 白川昌宏、
大阪大学蛋白質研究所 見嶋長次郎

367号 (2012/03/16)

「第一回岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会シンポジウム」のご案内

構造生物学・医学・論理的創薬の拠点構築を目指して、第一回岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会シンポジウムを3月23日金曜日に岐阜大学医学部で開催予定です。皆様のご参加お待ちしております。

マーカー AKR1B10の強力かつ選択的な阻害剤の創製・加藤善一郎(岐阜大学・医)ー構造医学

・山口圭一(岐阜大学・連合創薬)ー電界放出型透過電子顕微鏡によるアミロイド線維の観察

・額額 守(岐阜大学・工)ー天然物化学：NMRでつかめた情報ー具体例を通してー

・上野義仁(岐阜大学・応用生物)ー核酸化学：パイ電子充填型人工核酸の創製と活用

・廣明秀一(名古屋大・理)ー創薬標的としてのAAA-ATPaseとNMR構造生物学

簡単な懇親会、および、見学会(希望者のみ)(18:00～)

第一回岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会シンポジウム：構造生物学・医学・論理的創薬の拠点構築を目指して

日時：2012年3月23日(金) 15:00-19:00

場所：岐阜大学医学部8F多目的室

主催：岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会&岐阜超高磁場NMR利用研究会

<http://www1.gifu-u.ac.jp/kamatari/gnmr/>

講演会(15:00～18:00)

・鎌足雄司(岐阜大学・生命科学総合研究支援センター)ー構造生物学・医学・論理的創薬の拠点構築を目指して

・桑田一夫(岐阜大学・連合創薬)ー論理的創薬に基づく疾患治療法の開発

・遠藤智史(岐阜薬科大・薬)ー高次構造に基づいた癌

連絡先:

鎌足雄司(岐阜大学・生命科学総合研究支援センター)

Tel: 058-230-6151, E-mail: kamatari@gifu-u.ac.jp

参加費：無料(懇親会500円)

申込方法：事前登録不要

岐阜大学・生命科学総合研究支援センター・鎌足雄司

5. 求人

322号 (2011/04/15)

大阪大学総合学術博物館資料先端研究系教員公募

1. 所属

大阪大学総合学術博物館資料先端研究系

2. 職種及び人員

教授 1名

3. 専門分野

構造物理化学およびその文化財科学への応用。本公募の教員は、博物館資料の先端的研究を推進するとともに、本学大学院理学研究科を兼務する予定である。

4. 採用予定日

平成24年4月1日

5. 任期

なし

6. 応募資格

博士号取得者で、構造物理化学の教育・研究に携わっている方が望ましい。また、着任後、資料情報研究系の橋爪節也教授と協力して、博物館における教育・研究および管理・運営・社会的活動に関して指導的な役割を担える方。

7. 提出書類

①履歴書(写真貼付)、②研究業績リスト、③主要著書

や論文別刷5編以内(コピー可)、④これまでの教育・研究・社会貢献の概要(2000字程度)、⑤着任後の研究計画と教育・社会貢献に関する抱負(1000字程度)、⑥本人について照会できる方2名の氏名、所属、連絡先。

8. 公募締切日

平成23年7月29日(金) (消印有効)

9. 書類送付先

〒560-0043 豊中市待兼山町1-13

大阪大学総合学術博物館 橋爪節也

(封筒に「応募書類在中」と朱書きして、書留でご送付下さい)

TEL: (06)6850-6086,

E-mail: hashizume@museum.osaka-u.ac.jp

URL <http://www.museum.osaka-u.ac.jp/>

10. その他

提出書類は返却いたしません。ご承知おき下さい。現在の資料先端研究系は、教授(本公募)、豊田二郎准教授、宮久保圭祐准教授で構成されています。

329号 (2011/06/06)

産業技術総合研究所博士研究員募集

研究内容：固体NMRを用いたハイブリッド材料に関する研究

研究グループ 林 繁信

E-mail: hayashi.s@aist.go.jp TEL:029-861-9333。

詳細は下記ホームページをご覧ください。

http://unit.aist.go.jp/riif/ci/open_position/index.html

部署：計測フロンティア研究部門(つくば)

募集人員：博士研究員1名

雇用期間：平成23年6月1日以降できるだけ早い時期～平成24年3月31日

応募締切：適任者決定次第募集終了

産業技術総合研究所計測フロンティア研究部門

問合せ先：計測フロンティア研究部門 ナノ移動解析研

林 繁信

340号 (2011/08/10)

横浜国立大学 大学院工学研究院 機能の創生部門 教員公募

1. 職名 助教

2. 所属・担当

所属：工学研究院 機能の創生部門

担当：大学院工学府 機能発現工学専攻 先端物質化学コース

担当：工学部 物質工学科 化学コース

担当：理工学部 化学・生命系学科

3. 募集人数 1名

4. 採用日 2011年12月1日

5. 任期

5年間(但し、定められた基準に従い5年以内に准教授昇任審査を受けられる。任期延長等の詳細については、<http://www.ynu.ac.jp/about/organization/revision.html>を参照のこと)

6. 専門分野

生物物理化学に関わる分野(物理化学、生物化学の基礎教育のできる者)

7. 研究内容

固体および溶液NMRを用いて生体分子の構造と機能の相関を明らかにする構造生物化学分野の実験研究

8. 選考方法 書類選考と個別面談により選考

9. 応募資格

博士の学位を有する者、または着任時までに取得見込みの者。女性研究者・外国人研究者の応募を歓迎します。

10. 提出書類

- (1) 履歴書(写真添付, 学歴, 職歴, 研究歴, 教育歴, 所属学会, 博士の学位(写し: 学位を有する者), 賞罰)
- (2) 教育・研究業績書(原著論文(査読付きのもの)・総説・著書・国際会議論文・その他に区分)および主要論文5報以内(別刷りあるいはコピー)
- (3) これまでの研究・教育概要と採用された場合の教育・研究の抱負を併せて2000字程度にまとめたもの
- (4) これまでの外部資金獲得状況のリスト
- (5) 照会可能な方2名の氏名および連絡先

11. 担当授業等

大学院(先端物質化学コース)および学部(物質工学科化学コース, 化学・生命系学科)における物理化学関連の教育研究指導

12. 待遇 本学規則による

13. 応募期限 2011年8月31日(水)(必着)

14. 書類送付先

〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5
横浜国立大学 大学院工学研究院 機能の創生部門 部門長 鈴木和也
(応募書類は封筒に「機能の創生部門・教員応募書類(生物物理化学) 在中」と朱書き、書留にて上記宛先まで郵送のこと。)

15. 問い合わせ先

〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5
横浜国立大学 大学院工学研究院 教授 内藤 晶
電話 045-339-4232
メールアドレス: naito@ynu.ac.jp

16. その他

- (1) 本学の助教はテニュアトラック職であり、学校教育法の定めに基づいて教育研究を行う職です。詳細は上記5.のウェブサイトをご覧ください。
- (2) 本学は現在、文部科学省で募集している「テニュアトラック普及・定着事業」に応募しています。この事業への応募が採択された場合、本公募で採用された者はその支援を受けることになります。詳細は <http://www.jst.go.jp/shincho/23koubo/23jinzai.html> の「テニュアトラック普及・定着事業」に関する情報をご覧ください。

343号 (2011/09/05)

横浜市立大学専任教員の公募

横浜市立大学では、生命ナノシステム科学研究科生体超分子システム科学専攻において、下記の研究分野及び科目を担当していただける方を広く公募いたします。

主な担当科目等・職位・人数:

主な担当科目等	職位	人数
<分野> 生体超分子システム科学 <主な担当科目> (1) 構造生物学実習(博士前期1年次、前期集中1単位: 他9名と分担) (2) 生体超分子計測科学演習I(博士前期課程1~2年次、通年4単位) (3) 生体超分子計測科学演習I(博士後期課程1~3年次、通年6単位)	助教	1名

応募資格: 次の(1)~(3)の資格要件を満たす方。

- (1) 生体超分子システム科学専攻の大学院生に対する実習、演習を担当できる方
- (2) NMRを用いた構造生物学に基づいて、生体分子の構造と分子間相互作用を解明し、生命医科学分野における創薬基盤研究を遂行できる方

(3) 博士号取得者、又は博士号取得見込の方

任期: 5年(再任1回まで可)

着任時期: 平成24年4月1日以降できるだけ早い時期

勤務地: 横浜市立大学鶴見キャンパス

(横浜市鶴見区末広町1-7-29)

待遇: 職位・業績・職務内容などに応じた年俸制

応募期限: 平成23年11月7日(月)必着

選考方法: 書類審査のうえ面接

応募方法: 詳細は下記のWebサイトをご覧ください

http://www.yokohama-cu.ac.jp/univ/recruit/Tsurumi_20110819.html

問い合わせ先:

〒230-0045 横浜市鶴見区末広町1-7-29

横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科

生体超分子システム科学専攻長 木寺詔紀

Tel: 045-508-7231 Fax: 045-508-7367

E-mail: kidera@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp

以上

横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科

高橋 栄夫

352号 (2011/11/12)

研究員募集

募集人員

研究員1名: 博士号取得者、あるいは同等の研究能力を有する者。

研究内容

生体分子の動的構造・機能解析

提出書類

- (1) 履歴書
- (2) 研究業績一覧(論文リスト、学会発表リスト)
- (3) 推薦状または、応募者の研究能力を評価しうる者の氏名、連絡先

応募締切日

採用者が決定次第締め切ります。

勤務地および着任時期

自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター

(分子科学研究所)。

採用決定後できるだけ早い時期。

問い合わせ先・書類送付先

〒444-8787 愛知県岡崎市明大寺町字東山5-1

自然科学研究機構

岡崎統合バイオサイエンスセンター

生命環境研究領域・生命分子研究部門

TEL: 0564-59-5225

FAX: 0564-59-5224(または、TEL&FAX: 052-836-3447)

E-mail: kkatonmr@ims.ac.jp

自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター

教授 加藤晃一

368号 (2012/3/27)

住友ゴム工業株式会社NMR研究員(正社員)募集

ゴム・樹脂複合材料は、これに配合された材料の分散状態や結合状態の違いから、様々な物性が生まれます。この物性発現のメカニズムを解明・解析すべく、固体NMRの技術と知識を有効に活用できる方を募集します。

着任時期: 採用決定後、出来るだけ早い時期。応相談。

応募要領: 応募書類(履歴書、職務経歴書、志望動機、研究実績)を下記採用担当宛に送付下さい。

応募期限: 2012年6月29日(金) ただし適任者が見つかれば次第締め切らせていただきます。

募集人員: 1名

募集職種: ゴム・樹脂製品等の分析業務。特に、NMRを用いた研究開発業務。

勤務地: 当社技術研究センター(兵庫県神戸市)

応募資格: 修士卒以上。35歳位迄の方で、NMRを用いた研究開発業務の経験のある方。固体NMRおよび溶液NMRを用いた、ゴム・エラストマーまたは有機物の構造解析ができる方。博士号取得者(見込みを含む)で、NMRの各種測定手法を熟知している方を歓迎する。

〒651-0072 兵庫県神戸市中央区脇浜町3-6-9

住友ゴム工業株式会社 人事総務部 採用担当 石井健太

電子メール: k-ishii.ev@srigroup.co.jp

電話: 078-265-3006

尚、業務内容に関する問い合わせは下記で対応いたします。

住友ゴム工業株式会社 分析センター 小林将俊

電子メール: m-kobayashi.fu@srigroup.co.jp

6. 研究支援情報

330号 (2011/6/6)

平成23年度「先端核磁気共鳴装置群の産業利用支援プログラム」利用課題募集 (第2回)

1. プロジェクト概要

本プロジェクトでは、NMR装置群の産業界からの利用を促進します。また有効かつ継続的に産業界に供するため、課題ごとの技術指導、施設利用、課題解決という直接的なものだけでなく、産業利用を促進できる人材の育成と新たなニーズの創製を目指しています。

2. 応募資格

産業利用のみです。

3. 利用形態

トライアルユース (無料)、成果非占有 (有料、割引料金適用)、成果占有 (有料) の三形態があります。「トライアルユース」、「成果非占有」でのご利用の場合、下記募集期間で研究課題を募集いたします。「成果占有」でのご利用の場合は、個別にご相談させていただきますので、随時ご連絡ください。

4. 募集期間

平成23年5月31日から平成23年6月20日までの期間

5. 応募方法

応募書類：所定の申請書1部、NMR施設利用誓約書1部

応募書類および募集要項は、

http://www.protein.osaka-u.ac.jp/biophys/ja_kyoyo.html から入手できます。

提出期限：平成23年6月20日 (月) [必着]

提出先：〒565-0871 吹田市山田丘3-2 大阪大学 蛋白質研究所 機能構造計測学研究室 先端核磁気共鳴装置群産業利用支援プログラム担当

連絡先 E-Mail nmrkaihou@protein.osaka-u.ac.jp

大阪大学 蛋白質研究所 藤原敏道

342号 (2011/9/5)

平成23年度「先端核磁気共鳴装置群の産業利用支援プログラム」利用課題募集 (第3回)

1. プロジェクト概要

本プロジェクトでは、950、800MHz溶液NMRや700MHz固体NMRなど蛋白研NMR装置群の産業界からの利用を促進します。また有効かつ継続的にバイオ、化学、材料系などの産業界に供するため、課題ごとの技術指導、施設利用、課題解決という直接的なものだけでなく、産業利用を促進できる人材の育成と新たなニーズの創製を目指しています。

2. 応募資格

産業利用のみです。

3. 利用形態

トライアルユース (無料)、成果非占有 (有料、割引料金適用)、成果占有 (有料) の三形態があります。「トライアルユース」、「成果非占有」でのご利用の場合、下記募集期間で研究課題を募集いたします。「成果占有」でのご利用の場合は、特に応募期間は設けておりませんので、随時ご連絡ください。

4. 募集期間

平成23年9月1日から平成23年9月30日までの期間

5. 応募方法

応募書類：所定の申請書1部、NMR施設利用誓約書1部

応募書類および募集要項は、

http://www.protein.osaka-u.ac.jp/biophys/sentan_kyoyo/index_new.html から入手できます。

提出期限：平成23年9月30日 (金) [必着]

提出先：

〒565-0871 吹田市山田丘3-2 大阪大学 蛋白質研究所 機能構造計測学研究室 先端核磁気共鳴装置群産業利用支援プログラム担当

連絡先 E-Mail nmrkaihou@protein.osaka-u.ac.jp

大阪大学 蛋白質研究所 藤原敏道

344号 (2011/9/6)

平成23年度 理研NMR施設外部利用課題の募集 (第3回)

1. 概要

独立行政法人理化学研究所では、横浜研究所のNMR施設が培ってきた技術開発、施設整備、人材育成、解析体制などの成果を、広く国内外の企業や研究機関に対して、研究開発技術基盤として提供すること

により、科学・産業全般の発展に貢献することを目指しています。

当施設は、多彩な高性能NMR装置の利用時間提供にとどまらず、豊富な経験と知識を備えた技術指導研究員による試料調製支援、測定技術指導・支援、デー

タ解析指導・支援やコンサルティングなど、多彩な利用者支援を実施しており、利用者は、高性能NMR装置を利用するだけでなく、NMRを用いた研究開発に関する教育、技術指導にいたるまで一貫した支援を受けることができます。

なお、本事業は文部科学省「先端研究施設共用促進事業」に採択され経費の一部が補助されており、同事業に同じく採択された横浜市立大学並びに大阪大学蛋白質研究所と連携して事業を実施しています。

2. 利用形態

今回募集を行うのは次の三形態です。

(1) トライアルユース (無償)

(2) 成果占有利用 (有償)

(3) 成果非占有利用 (有償：割引料金適用)

(別途、被災研究者支援枠の利用課題も募集しております。)

3. 応募条件

・ (1) については、産業界利用や産学官共同研究利用

が対象となります。

・ (1) と (3) については、成果公開が条件となります。

・ (1) については、利用期間は今年度内に限ります。

詳しい応募条件は公募要領でご確認ください。

4. 募集期間

平成23年9月1日から平成23年9月30日まで

(2) に関しては、随時受け付けいたします。

5. 応募方法その他詳細

http://www.ynmr.riken.jp/external_docs/external_h23-3.html をご覧ください。

6. お問い合わせ先

独立行政法人 理化学研究所 横浜研究所

研究推進部 NMR施設開放担当

E-mail: nmrkaihou@yokohama.riken.jp

理化学研究所 生命分子システム基盤研究領域

木川隆則

355号 (2011/12/08)

平成24年度超高磁場NMR共同利用研究課題募集

大阪大学蛋白質研究所では、超高磁場NMR装置 (1H共鳴周波数950MHzと800MHz) の共同利用研究課題の募集を下記の通りに行います。

1. 超高磁場NMR装置の概要

本装置は、世界でも最高クラスの静磁場下で溶液NMR実験を行うものであり、これまでにない高いスペクトル分解能と感度を持っています。この特徴を利用して、蛋白質複合体など生体系分子を対象として構造解析を行い、その機能を解明していくことを目的として設置されています。¹H共鳴周波数950MHzと800MHzのNMR装置はともに、高感度測定用のクライオ・プローブを装備しています。800MHzの装置は、理研との連携協力として蛋白研に移設されたものです。共同利用に供している他のNMR装置などを含め詳細に関しては、WWW上で公開していますので参照してください。(http://www.protein.osaka-u.ac.jp/

[biophys/ja_nmr.html](http://www.protein.osaka-u.ac.jp/biophys/ja_nmr.html))

2. 応募資格

大学及び国公立研究機関、並びにこれに準ずる機関の研究者

3. 研究期間

平成24年4月1日から平成25年3月31日までの期間

4. 応募方法

応募書類：所定の申請書 正本1部 写1部

申請書および本募集要項は、蛋白研のwebサイト (公募・募集のページ) (<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/jpn/applications/applications/>) から入手できます。

提出期限：平成23年12月19日 (月) [必着]

提出先：〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-2

大阪大学蛋白質研究所 共同利用係

大阪大学蛋白質研究所 藤原敏道

日本核磁気共鳴学会規約

日本核磁気共鳴学会会則

第1条 本会は、日本核磁気共鳴学会(The Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan)という。

第2条 本会は、核磁気共鳴に関する基礎・応用研究、並びに啓蒙・教育活動を推進し、我が国における核磁気共鳴研究の発展に寄与することを目的とする。

第3条 本会は、学術集会の開催、会報の発行、その他前条の目的を達成するために必要な事業を行う。

第4条 本会は、必要な地に支部を置くことができる。

第5条 本会の会員は一般会員、学生会員、賛助会員および名誉会員とする。

1. 一般会員および学生会員は核磁気共鳴に関する研究に従事、またはこれに関心を持つ個人であって、本会の目的に賛同し、定められた会費を納める者をいう。
2. 賛助会員は本会の目的に賛同し、定められた賛助会費1口以上を納める個人または団体をいう。
3. 名誉会員は、我が国の磁気共鳴研究に特に功労のあった者から、理事会の推薦を経て総会の議決により決定する。

第6条 会員は本会の行う諸事業に参加し、本会が出版物を発行する際は配布を受けることができる。

第7条 会員として入会しようとする個人または団体は、細則に定められた手続きに従って申込み、会長の承認を得なければならない。

第8条 会員は下記の会費を納めるものとする。ただし名誉会員はこれを要しない。原則として、毎年3月31日までに次年度の会費を納入するものとする。

- 一般会員 年額 7,000円
学生会員 年額 3,000円
賛助会員 年間 一口以上(一口50,000円)

第9条 会員は会長に届け出て退会することができる。会費を滞納した会員、または理事会で理由をあげて本会の会員として適当でないと決議された会員に関して、会長はそれらの者の会員

資格を停止、あるいは除籍に処することができる。

第10条 本会には、次の役員(理事、評議員)および会計監査をおく。

1. 理事 10名以内(会長、副会長各1名を含む)ただし、会長の理事任期が3年目になる場合は11名以内。
2. 評議員 35名以内(理事を含む)
3. 会計監査 2名

第11条 役員は一般会員の中から一般会員の投票により選出され、総会で承認を得るものとする。理事は役員の互選により決定する。会長、副会長は理事の互選による。会計監査は理事以外の一般会員の中から一般会員の投票により選出される。役員の任期は2年とする。ただし、会長の任期は選出されてから2年とし、役員任期が3年となることを妨げない。会長は連続して再選されないものとする。ただし、非連続の再選はこれを妨げない。

第12条 会長は本会を代表して会務を総括する。

第13条 会長は理事会の承認を得て諸業務担当の幹事若干名をおくことができる。業務担当幹事は会長を助け、本会の運営にあたる。

第14条 副会長は会長を補佐し、会長が欠けたとき、または会長に事故があるときは会長の職務を代行する。

第15条 理事は理事会の審議に加わるほか、会長を助けて会務を執行する。

第16条 評議員は評議員会の審議に加わり、会の運営について評議する。また、理事会の諮問があった事項、その他必要と認める事項について助言する。

第17条 会議を分けて、総会、評議員会、理事会の3つとする。

第18条 総会を分けて、通常総会と臨時総会とし、会長がこれを召集してその議長となる。通常総会は毎年1回開催する。臨時総会は次の場合にこれを開く。

- (1) 理事会が必要と認めた場合
- (2) 一般会員の3分の1以上から議案を添えて請求があった場合

第19条 総会は一般会員の5分の1の出席により

成立し、議事は出席者の過半数の同意を持って決する。ただし、可否同数のときは議長がこれを決する。一般会員は総会における議決権の行使を他の出席者に書面をもって委任することができる。

第20条 評議員会は会長がこれを招集して議長となる。評議員会は年1回以上これを開く。ただし、理事会が必要と認めた場合はこれを開かなければならない。

第21条 評議員会は2分の1以上の出席がなければ開くことができない。ただし、出席者に書面をもって委任することができる。評議員会の議事は出席者の過半数の同意をもって決し、可否同数の場合は議長がこれを決する。

第22条 理事会は会長がこれを招集して議長となる。理事会は会則に定めてある事項ならびに総会および評議員会の執行について議決する。

第23条 理事会は3分の2以上の出席がなければ開くことができない。理事会の議事は出席者の過半数の同意をもって決し、可否同数の場合は議長がこれを決する。ただし、理事会に出席できない理事はあらかじめ通知された事項について書面をもって議決に加わることができる。理事会があらかじめ通知していない事項について可決した場合は、これを欠席理事に通知しその賛否を求め、理事会の決議とすることができる。

第24条 理事会は年1回以上開催するものとする。

第25条 本会の会計年度は4月1日に始まり、翌年3月31日に終わる。

第26条 本会則の施行についての細則は別に定め、その変更は理事会の議決を経る。

第27条 本会則の変更ならびに本会の解散は総会の議決を経る必要がある。

第28条 本会則は、2001年11月15日より施行する。

第29条 付 則
2004年4月から3年間は経過措置として、役員半数の任期を3年とすることができる。

2001年11月15日
日本核磁気共鳴学会総会議決

2002年4月1日
制定

2002年11月7日
改定

2003年11月26日
改定

2008年11月12日

第10条 評議員数、および第11条 会長の非連続選出について

改定

2009年11月11日

第10条、第11条、第12条

改定

細 則

第1章 会員

第1条 本会に入会を希望する者は、所定の入会申込書に必要事項を記入し、会長に提出するものとする。

第2章 総会

第2条 総会の議案は会長が作成し、理事会の議を経た後提出する。議案には前年度の事業内容および収支決算、新年度の事業計画、および収支予算を含むものとする。なお、一般会員の3分の1以上の賛成を得て、理事会に提案があった場合には、これを最も近い総会の議題としなければならない。

第3条 総会を開くときは、会長は予定された審議事項の内容を一般会員にあらかじめ通告しなければならない。

第3章 役員の選出

第4条 毎年役員半数を改選する。役員および会計監査の候補者は次のものの中から一般会員の投票によって選ぶ。

1. 立候補した一般会員
2. 一般会員が推薦した一般会員(以下会員推薦候補者)
3. 理事会が推薦した一般会員(以下理事会推薦候補者)
4. 会計監査と役員を兼ねることはできない。

第5条 役員および会計監査の投票は次のように行う。

1. 理事会は役員および会計監査の立候補者、および会員推薦候補者をつのり、理事会推薦候補者とともに一般会員に公示し、一般会員の投票により役員および会計監査候補者を選ぶ。
2. 会長は一般会員の中から2名を選んで選挙管理委員を委嘱する。選挙管理委員会は選挙事務を行い、一部を選挙管理委員会管理の下に業者に委託することができる。選挙管理委員は被選挙権を有する。

3. 役員は連続して3回まで、会計監査は連続して2回まで選出されることができる。それぞれ退任後2年間は同じ役職に就任することはできない。すでに、上記の選出回数に達した者の氏名は選挙要項に公告される。
4. 役員は得票者中の上位の者より順に改選定員数以内を選出、会計監査は得票者中の上位の者より順に2名を選出する。同数得票者については選挙要項に従って順位を定める。

第4章 幹事

第6条 会長は理事会の承認を得て、会員の中から、必要に応じて諸業務担当幹事を委嘱する。幹事の任期は1年とする。ただし、会長の任期内で延長を妨げない。

第5章 事務所

第7条 本会の事務所は次のところにおく。

日本核磁気共鳴学会事務局〒650-0033 神戸市中央区江戸町85-1 ベイ・ウィング神戸ビル10階(株)プロアクティブ内

第8条 年会費は(株)プロアクティブが指定する方法により納入するものとする。

第6章 細則の変更

第9条 本細則の変更は理事会の議決による。

第10条 本細則は、2001年11月15日よりこれを実施する。ただし、本会発足時、第1回の役員を選出および幹事の承認は総会で行うものとし、それらの任期は2004年3月31日までとする。

2001年11月15日

日本核磁気共鳴学会総会議決

2002年4月1日

制定

2002年11月6日

改定

2003年6月21日

改定

2003年11月25日

改定

2005年6月25日

改定

2007年5月12日

改定

2008年4月29日

第5条-3 非選出期間の設定ならびに文言の修正。

第7条 プロアクティブの移転に伴う住所の変更。

改定
2008年11月11日
第6条 幹事の選出、任期について
改定
2009年3月21日
第4条、第5条
改定

選挙要項

第1条 日本核磁気共鳴学会細則第3章に定める役員および会計監査の選出が、円滑に行われるようこの要項を定める。

第2条 選挙管理委員会は役員および会計監査の選挙を行うたびごとに設け、当選人を理事会へ報告した時点で解散する。

第3条 選挙管理委員会は委員の互選により委員長を定める。

第4条 選挙管理委員会は一般会員に対して役員および会計監査選挙の告示を行う。

第5条 選挙管理委員会は役員および会計監査の立候補者、および会員推薦候補者の受付を一般会員に公示しなければならない。

第6条 役員および会計監査の候補者を推薦する場合は、一般会員1名につき役員候補者は3名以内、会計監査は1名を推薦することができる。役員候補者は3名以上推薦のあった会員を会員推薦役員候補者とする。

第7条 選挙管理委員会は、候補者の氏名、その他必要な事項を掲載した候補者名簿を作成し、これを選挙用ウェブサイト公表しなければならない。

第8条 投票は選挙用ウェブサイトで行う。投票用候補者リストより、役員は10名以内、会計監査は2名以内を選ぶ。

第9条 開票は、選挙管理委員会がこれを行う。

第10条

1. 評議員および会計監査は、得票数の最も多い候補者から、順次、会則第10条および細則第5条によって定められた定数までの候補者を当選とする。評議員、会計監査ともに当選圏内にある者は前者の当選者とする。
2. 末位に得票数の等しい候補者が2名以上あったときは、選挙管理委員会はこれらを併記して理事会に報告する。これらの候補者の当落は理事会が決定する。

第11条 評議員会における理事の選挙は選挙担当理事が管理する。新理事の被選挙権は次年度役員に選ばれた評議員にのみある。選挙権は次年度の全評議員にある。選挙は5名連記の無記名投票によって行い、定数および次点を決定する。開票に当たっては被選挙権を有しない評議員が立ち会う。

第12条 理事会における次期会長および次期副会長の選挙は選挙担当理事が管理する。まず、次期会長の選挙を行い、その結果を踏まえて次期副会長選挙を行う。次期会長、次期副会長の被選挙権、選挙権は次年度の全理事にある。ただし、現会長は会則第11条に基づき次期会長の被選挙権を持たない。副会長の任期は役員任期内とする。その後任の副会長の任期は会長の任期終了までとする。選挙は無記名投票によって行う。開票は選挙担当以外の理事の立会いの下に行う。

第13条 評議員および会計監査の選挙に関して疑義を生じたときは、選挙管理委員会の合議によって決定し、理事会に報告するものとする。

2003年6月21日

制定

2009年3月21日

第6条、第10条

改定

第11条、第12条

追加

2009年7月11日

第13条

改定

2012年7月14日

第7、8条

改定

日本核磁気共鳴学会 機関誌「NMR」投稿規程

日本核磁気共鳴学会 機関誌「NMR」は主にNMRに関する情報を公開し、会員の皆様の学術交流を目的とした会員サービスを提供します。本学会の会員の皆様から原稿の種別で記した欄に奮ってご寄稿いただくようお願いいたします。ただし、一般投稿原稿の採択の可否は編集委員の査読結果をもとに編集委員会で決定します。なお掲載された著作物の著作権は本学会に帰属するものとします。依頼原稿に関しては編集委員会での承認を経て会員以外の方に依頼することもあります。

執筆原稿は以下の原稿のフォーマットを参照してワープロで作成し、本文・図・表を含むファイルを下記編集委員長までメールで投稿してください。図や表を他の文献から引用して使用する場合には投稿前に著作権所有者から許可を得てください。図も含めた依頼原稿については担当編集委員にメール添付にて提出してください。

学会機関誌編集委員長 内藤 晶
naito@ynu.ac.jp

原稿の種別と字数

● 会長メッセージ

NMR学会会長からのメッセージ。2000字以内、1頁。

● 巻頭エッセイ

主にNMR討論会特別講演者の講演要旨。NMR討論会やNMR学会との関わりなどについて自由に書いてもらう。NMR討論会の要旨と共通であってもよいとする。2000字～4000字 1～2頁(図表を含む)。簡単な履歴と顔写真を提出してください。

● 解説

あるテーマについて著者の成果を中心にそのテーマの分野の現状を専門外の読者にも分かりやすく解説する。8000字～16000字 4～8頁(図、表を含む)。簡単な履歴と顔写真を提出してください。

● トピックス

2年以内に発展した新しいNMRの展開について解説したミニレビュー。4000～8000字 2～4頁(図、表を含む)。簡単な履歴と顔写真を提出してください。

● 研究報告

投稿者(一般会員)と共著者で行ったNMRに関するオリジナル研究報告。6000～12000字 3～6頁(図、表を含む)。簡単な履歴と顔写真を提出してください。

● NMR基礎講座

主にNMR討論会のチュートリアル講演者等によるNMRの基礎についての解説。4,000～10,000字 2～5頁(図、表を含む)。簡単な履歴と顔写真を提出してください。

● 技術レポート

NMRの装置や測定方法の開発を解説したレポート。4000～8000字 2～4頁(図、表を含む)。簡単な履歴と顔写真を提出してください。

● NMR便利帳

一般会員がNMR実験に関して便利と思われる装置(ハード)や実験方法・解析(ソフト)の工夫、その他、最近とくに取り組みがさかんになりつつある研究上の安全衛生(磁場、高気圧、高電圧、酸欠、毒物劇物)などについて便利な点を分かりやすく解説する。4000～6000字 2～3頁(図、表を含む)。簡単な履歴と顔写真を提出してください。

● 海外学会参加報告

若手研究者渡航費助成金受領者は必ず寄稿してください。現状でもニュースレターに報告することが義務付けられているので、この原稿が学会誌にも掲載されます。さらに、一般会員が参加した海外学会報告の寄稿を歓迎します。2000～4000字 1～2頁(図、表を含む)。

● NMR研究室便り

主にNMRを使って研究を行っている大学や公的機関、企業の実験室が構成員、研究テーマ、特徴など、研究室の内容を紹介する。2000～6000字 1～3頁(図、表を含む)。

● 若手NMR研究会だより

若手NMR研究会の主催者による研究会報告、参加者の報告、講演者の要旨の寄稿を歓迎いたします。4000～8000字 2～4頁(図、表を含む)。

原稿のフォーマット

◇ 表題は14ポイント、テキストは12ポイントで日

本語は明朝体、英語はTimesのフォントで書いて、doc,あるいはdocxファイルで提出してください。

◇ テキストは表題、所属、本文、文献、表、図の順番にして提出してください。

◇ 巻頭エッセイ、解説、トピックス、研究報告、NMR基礎講座、技術レポート、NMR便利帳の著者は略歴と顔写真のファイルを提出してください。

◇ 図はTIF, JPG, PDFファイルで600dpi以上の解像度で作成し、提出してください。

◇ 図と表には番号を付けて説明を記入してください。

◇ 文献は

- 1) Javkhlantugs, N., Naito, A., and Ueda, K., (2011) Molecular dynamics simulation of bonbolitin II in the dipalmitoylphosphatidylcholine membrane bilayer. *Biophys. J.* **101**, 1212-1220.
- 2) 内藤 晶 (2011) 光センサータンパク質の情報伝達機能. *化学* **66**, 68-69.
- 3) Saito, H., Ando, I., and Naito, A. (2006) Solid State NMR Spectroscopy for Biopolymers. Principles and Applications. pp. 1-464, Springer, Dordrecht.

を参考にして記入してください。

賛助会員名簿

味の素株式会社
 SIサイエンス株式会社
 株式会社JEOL RESONANCE
 株式会社シゲミ
 ジャパン スーパーコンダクタ テクノロジー株式会社
 太陽日酸株式会社
 アジレント・テクノロジー株式会社
 ブルカー・バイオスピン株式会社

平成24年9月3日現在の本学会賛助会員は上記の通りです。
 本学会の事業に対しご賛助いただきましたこと、厚く御礼申し上げます。

学会機関誌編集委員名簿 (2012, 2013年度)

編集委員長	内藤 晶	横浜国大院工
副編集委員長	池上 貴久	阪大蛋白研
	河合 剛太	千葉工大
編集委員	鈴木榮一郎	味の素
	出村 誠	北大院先端生命科学研
	浅野 敦志	防衛大応用化学
	松森 信明	阪大院理
	鳥澤 拓也	中外製薬
	川村 出	横浜国大院工
	中澤 靖元	東京農工大科学博物館
	上田 卓見	東大院薬
	五十嵐俊介	味の素
	菅瀬 謙治	サントリー生有研

編集後記

日本核磁気共鳴学会機関誌「NMR」は鈴木榮一郎前編集委員長のご尽力でVol. 1, Vol. 2がこれまでに発行されております。この機関誌によってNMR学会会員の皆様にも学会情報や学会決定事項を発信できるようになりました。今回はVol. 3特別号を会員の皆様にお届けいたします。このVol. 3特別号はこれまでのVol. 1, Vol. 2の内容に比べて、会員からの投稿原稿を大幅に増やし、NMR学術関連情報を加えて、情報内容を一段と強化しました。このVol. 3特別号は電子版だけでなく冊子体としても発行することにしました。さらに発行の過程で、編集の完了した原稿は、ニュースレターに掲載すると同時にプレリリース版として、学会ホームページに会員限定閲覧サービスを開始いたしました。

編集作業は4月より始め、まず幅広い若手中心の編集委員会を発足しました。この新編集委員会を中心に編集方針を制定し、さらに投稿規程を制定しました。この編集方針、投稿規程に沿って、現在活躍中のNMR研究者に原稿執筆依頼を行いました。短い執筆期間にもかかわらず多くの研究者に快く執筆を引き受けていただき、さらに多くの方が締め切り前に原稿を提出してくださいました。11月のNMR討論会までの発行をめざしておりましたので、編集委員の皆様には迅速な編集作業を行っていただきました。この結果、今回お届けする、Vol. 3特別号が完成いたしました。今後、この学会機関誌に多くの会員からの投稿があることを期待しております。そして、投稿原稿を会員の皆様の業績に加えていただけることを編集委員一同、心より願っている次第であります。

最後になりましたが、編集委員、原稿執筆者、NMR学会役員、および会員の皆様並びにクバプロNMR学会機関誌編集室の宮山洋子様、松田國博様には学会機関誌発行に向けて、多大なご尽力をいただきましたことに感謝申し上げます。今後とも学会機関誌の発展にさらなるご協力をお願い申し上げます。

2012年10月 日本核磁気共鳴学会機関誌編集委員長 内藤 晶

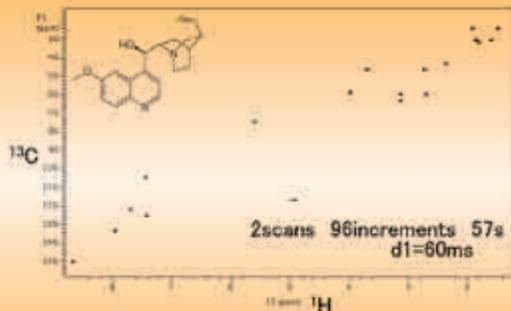
NMR
 BULLETIN OF THE NUCLEAR
 MAGNETIC RESONANCE SOCIETY OF JAPAN
 Vol.3 特別号
 2012年10月22日発行

発行：日本核磁気共鳴学会

編集：NMR学会機関誌編集室 株式会社クバプロ
 〒102-0072 東京都千代田区飯田橋3-11-15
 TEL：03-3238-1689 FAX：03-3238-1837

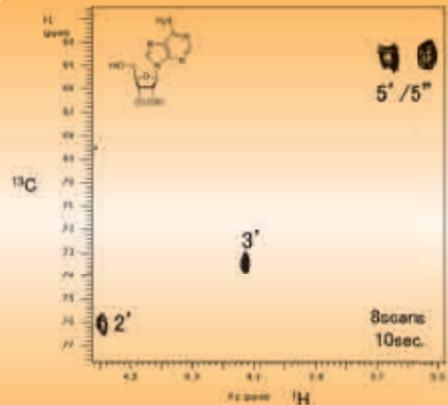
Agilent Technologies Fast NMR in Liquids and Solids

ASAPHMQC



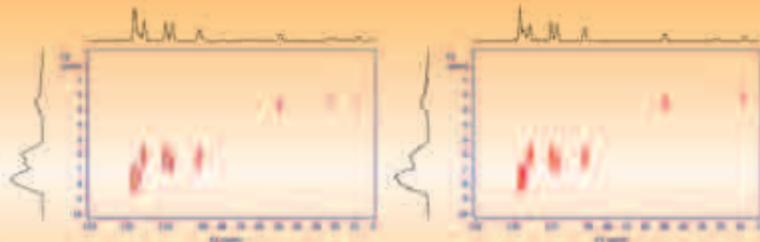
キニーネの ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル
ASAPHMQC 法を用いてパルス間隔
僅か 60ms で測定

UltraFast Method

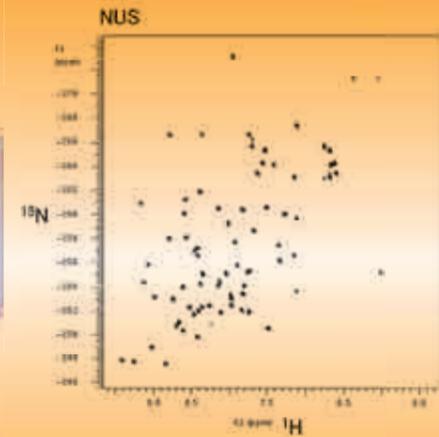


[33%U- ^{13}C , ^{15}N] アデノシンの UltraFast Method
による ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル

Non Uniform Sampling



インドメタシンの ^1H - ^{13}C 固体 HETCOR スペクトル
左: CLEAN アルゴリズムを用いて 32 インクリメントで測定
右: 通常の 2 次元で 128 インクリメントで測定



[98%UL- ^{15}N] ユビキチンの ^1H - ^{15}N HSQC スペクトル
CLEAN アルゴリズムを用いて 48 インクリメントで測定

SI サイエンス株式会社

安定同位体標識試薬

(^{13}C ^{15}N D $^{17-18}\text{O}$)

Cambridge Isotope Laboratories, Inc(C.I.L.)正規輸入代理店

- NMR用
標識アミノ酸 重水 核酸 糖 塩安 CHL培地 NMR溶媒 ユビキチン他
- ^{13}C 代謝 呼吸測定用
Triolein、Triolein, Tripalmitin, Octanoic acid, Glycine,
L-LEUCINE, Lactose Ureide 脂肪混合物、脂肪酸混合物、 他
- ^{15}N 標識トレーサー試験用
硫酸 硝酸塩 尿素 被覆肥料 $^{13}\text{CO}_2$ NaHCO_3
- メタルアイソトープ各種
Fe Cu Ni Cr Cd Ca Na K 他
- 希ガス 及び混合ガス
He Ne Ar Kr Xe 他



<その他、下記メーカー品の販売代理店もしております。>

クロレラ工業(株)(日本)、ISO FLEX社(ロシア)、ICON社、OMICRON社(米国)

安定同位体受託分析

安定同位体比質量分析計(IR-MS)を導入し、安定同位体
(^{13}C ^{15}N D ^{18}O ^{34}S)の受託分析を行っています。

- 測定項目
 ^{13}C ^{15}N D ^{18}O ^{34}S の Natural 及び Tracer
- 測定機器
サーモ フィッシャー サイエンティフィック(株)製
DELTA V Plus 他4台稼働



SIサイエンス(旧 昭光通商(株)安定同位体G)は国内唯一の ^{15}N 濃縮メーカーです。 ^{15}N 標識化合物のほか、永年にわたりCIL社(ケンブリッジアイソトープラボラトリーズ)の国内販売代理店として、安定同位体(SI)標識アミノ酸をはじめ様々なSI標識化合物をご提供しております。また、SIメタルやSI標識希ガスなど、安定同位体関連商材を幅広く取り扱っております。

SIサイエンス 株式会社

〒345-0023 埼玉県北葛飾郡杉戸町本郷473-3

TEL:0480-37-1555 FAX:0480-37-1533

E-mail:isotope@si-science.co.jp

URL:http://www.si-science.co.jp/

2012 New product!

200-series! 装置仕様は別途お問い合わせください

AQUALIA®
アカデミック・スターターパッケージ

- ☑ 現実的な導入コストで研究用コンパクトMRIが手軽に始められます
- ☑ 永久磁石式MRIは将来にわたる維持コストを最小限度に抑えられます
- ☑ 計測ユニットや磁気回路等(0.12~2.0 T)等のオプション追加変更で研究と応用の幅を広げられます
- ☑ オプション追加で小動物(マウス,ラット他)の撮像に対応しています

- ・¹H-NMRイメージングシステム
- ・静磁場強度0.3 Tesla: 均一撮像領域 30 mmφ [DSV]
- ・RF コイルボア内径 30 mmφ (特注コイル可)
- ・DTRX5 トランシーバ, 3軸勾配磁場電源, RFアンプ, LNA
- ・MRTe.Sampler(画像取得ソフトウェア年間ライセンス付: 基本撮像, バッチ処理他)
- ・MRTe.iPlus(画像表示解析ソフトウェア年間ライセンス付: ROI計算, T₂値マップ他)
- ・2D/3D撮像, SE系, GRE系, マルチスライス, 同期撮像オプション有
- ・必要事項: 電源AC100V/15A, 室温空調設備(20-26°C), 床耐荷重400kg/m², VPN接続
- ・アナログLCDモニタ別途必要、輸送費、現地据付調整費別
- ・アカデミック価格、納期、他詳細はemailにてお問い合わせください



・注1: 大学および公的研究機関向けです。MRIに関する安全性を理解している方に限りです
 ・注2: 外観および仕様は予告なく変更することがあります

各社製品の輸入代理店です。お気軽にお問い合わせください



株式会社エム・アール・テクノロジー 代表取締役 拝師智之
 〒305-0047 茨城県つくば市千現 2-1-6 つくば研究支援センターB5
 TEL : 029-859-5075 Email : info@mrtechnology.co.jp
 FAX : 03-6203-8222 URL : http://www.mrtechnology.co.jp/

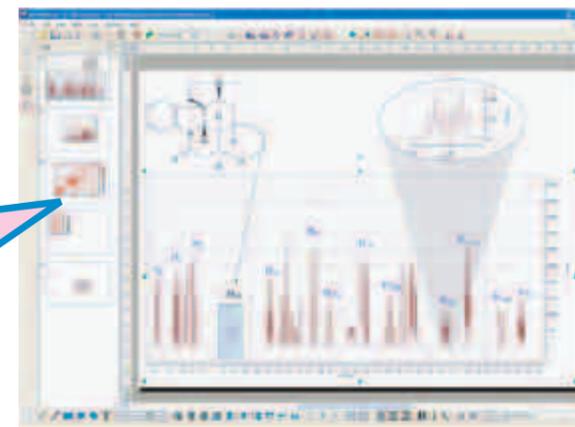
高機能NMR解析・レポートソフト

MestreNova

Mnova7

Mnovaは1Dおよび2DのNMRプロセス、アナリシス、レポート用のソフトウェアです。WYSIWYGでマルチページのGUIを持っており、Windows、MacOS X、Linuxいずれの環境でも動作します。

主な機能:
 自動プロセスと解析、スペクトル描画カスタマイズ、
 図形描画機能、マクロ機能、
 マルチプラットフォーム、自動アサインメント、
 テーブル作成、化学構造式表示、スペクトル予測



- ・MS Power Pointライクなインターフェース
- ・NMRスペクトルを直感的に操作
- ・ドローソフトの編集ツールが使用可能

45日の無料トライアルが可能です。

固体用NMRプローブ・アクセサリ

Revolution NMR, LLC

Equipment you trust from people you know

Revolution NMR, LLC

Revolution NMR社はプローブのアップグレード及び修理のサービスを提供しています。現在までに、120以上のプローブ修理と20以上のアップグレードを行ってきました。そして、ユニークな操作要求やマグネット構成に合わせたカスタムスピニングモジュールを開発提供しています。

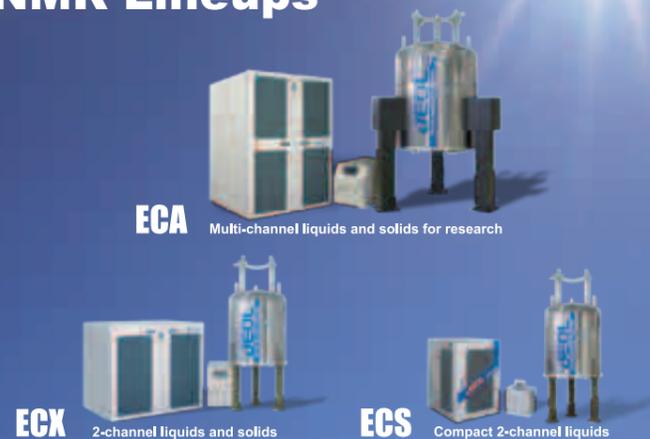
Revolution NMR社スピニングモジュールだけでなく、Chemagnetics社やAgilent (Varian) 社用ローターも提供しています。



株式会社エルエイシステムズ

〒115-0005 東京都台東区上野1-11-5時計会館ビル1F
 Tel: 03-5812-5311 Fax: 03-5807-4050 E-mail: support@las.jp

NMR Lineups



ESR Lineups



Innovation
Progressive
Breakthrough
State-of-the-art
Epoch-making

JEOL RESONANCE Inc. was established as an innovative magnetic resonance instruments development company in a JEOL group. We are going to contribute to a progress of science by providing the state-of-the-art instruments and solutions.

JEOL RESONANCE Inc. challenges to make a new generation of Magnetic Resonance.

前人未到の領域へ！

世界最速

世界最高試料回転速度110 kHz以上を誇る固体高速MASプローブ



0.75 mm CPMAS probe

0.75 mm試料管(容量0.29 μl)で世界最高回転速度110 kHz以上を(2012年9月現在)実現した0.75 mm CPMASプローブは、マイクロコイルによる微量試料に対する高感度測定その他、強いRF磁場強度と超高速試料回転の効果により、様々な新しい固体NMRの世界を可能にしました。

世界最大

世界最大試料容量616 ml以上を誇る固体大容量MASプローブ



8 mm CPMAS probe

ナローボアマグネットにおける世界最大試料量616 ml(2012年9月現在)を誇る8 mm CPMASプローブは²⁹Si核や低周波核など感度の悪い核種の測定に有効です。



デジタルNMR開発の歴史



原子核・電子までも共鳴させる力
 そこから見える世界があります。
 -The tool for Professionals-

『科学技術立国“日本”を支える力になりたい。』
 磁気共鳴装置専門メーカーとして50年以上の歴史を積み重ね、
 常にフロントランナーであり続けるブルカー・バイオスピンの。
 ユーザーとの固い絆で培われた最先端テクノロジーが惜しみなく
 投入されたBRUKER社製品は、日本の様々な分野で活躍される
 研究プロフェッショナルが持つあくなき探究心と共鳴し続けます。

Year	分光計	超伝導磁石	プローブヘッド	オートサンプルチェンジャー	その他の技術革新
2012	AVANCE III HD		Prodigy TCI BBFO CryoProbe	Sample Pro	Non Uniform Sampling
2010	Fourier300	Ascend	Prodigy BBO QCI CryoProbe	Sample Case Sample Mail Sample Xpress Lite	NMR Thermometer
2008	AVANCE III Nano Bay	900WB US2 (Shield) 1000 Ultra Stabilized	SMART Probe	Sample Xpress	DNP
2006		800WB US2 (Shield)	1.7Hollow CryoProbe		85N1
2004	AVANCE II AV300/400/M	800 US Plus (Shield) 950 US2 (Shield)	Micromag CryoProbe 10Φ DNP cryoProbe	Sample Jet	Top Shim
2002	AVANCE ICE	900 US2 (Shield)	QNP 1H/13C/15N/19F CryoProbe HCP CryoProbe QCN CryoProbe		ATMA for CryoProbe
2000	AVANCE I INCA	Ultra Shield Plus	1Φ Micro Litter Probe		Cryo FIT
1998		800 US2 (Shield) 900 Ultra Stabilized	2Φ Micro CryoProbe	BEST NMR	LC-SPE-NMR/MS
1996		750WB Ultra Stabilized	10Φ CryoProbe	NMR Case	LC-NMR/MS
1994	AVANCE	700 Ultra Shield	2.5Φ Micro Probe		ATMA
1992		Ultra Shield	HR-MAS (with Gradient)	NMR Six pack	Q Switching Module 2D Decoupling Digital Filter DDO Gradient Shimming
		800 Ultra Stabilized	Laser Heat MAS	B-ACS	Digital Lock
		750 Ultra Stabilized			



〒221-0022
 神奈川県横浜市神奈川区守屋町3-9
 ブルカー・バイオスピン株式会社
 本社
 TEL: 045-444-1390
 FAX: 045-453-2457

〒532-0004
 大阪市淀川区西宮原1-8-29
 ブルカー・バイオスピン株式会社
 大阪営業所
 TEL: 06-6394-8989
 FAX: 06-6394-9559

Innovation with Integrity

Bruker BioSpin Group
info@bruker-biospin.com
www.bruker-biospin.com

E-Mail: info@bruker-biospin.jp
 HP: www.bruker.co.jp

安定同位体標識化合物

Stable Isotope for Structural Biology

大陽日酸は多次元NMRでの構造解析に必須な安定同位体標識化合物を高い品質・お求め易い価格で販売しております。

安定同位体標識無細胞タンパク質合成キット

独立行政法人理化学研究所の無細胞タンパク質合成技術をキット化したしました。

New!

無細胞くん[®] SI SS



安定同位体標識タンパク質合成キット

無細胞[®] くん SI SS

SS結合を持つ抗体やサイトカインなどの分泌タンパク質合成専用キットです。安定同位体標識タンパク質の合成に最適です。

製品番号	製品名	数量	保存温度	希望納入価格(円)
A89-0126	無細胞くんSI SS	1キット	-80℃	65,000

無細胞くん[®] SI



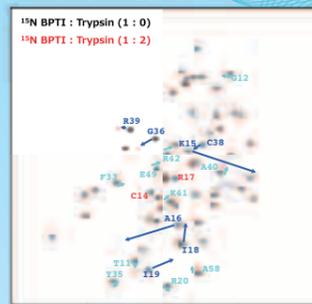
安定同位体標識タンパク質合成キット

無細胞[®] くん SI

安定同位体標識タンパク質合成専用キットです。迅速・簡単に大量合成できます(CATタンパク質最大合成量 5mg/mL)。発現確認用「無細胞くんQuick」と併せてお使い下さい。

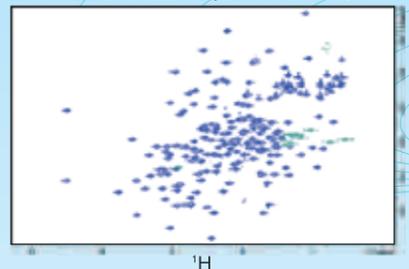
製品番号	製品名	数量	保存温度	希望納入価格(円)
A29-0059	無細胞くんSI	1キット	-80℃	55,000

BPTI プロテアーゼインヒビター ¹H-¹⁵N HSQCスペクトル



Biological Magnetic Resonance Data Bank 5358, 5359 were used for assignments.

Ras (Y32W) タンパク質の ¹H, ¹⁵N-HSQCスペクトル



ご提供: 独立行政法人理化学研究所生命分子システム基盤研究領域 NMR/ハイブライン高度化研究チーム殿

無細胞くん用 安定同位体標識アミノ酸

製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)	製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)
A107-0144	アミノ酸混合物水溶液-UL-d	1mL	ご相談	A42-0075	アミノ酸混合物水溶液-UL- ¹³ C, ¹⁵ N,d	1mL	35,000
A39-0072	アミノ酸混合物水溶液-UL- ¹⁵ N	1mL	15,000	A91-0128	アミノ酸混合物水溶液-Lys,Arg-UL- ¹³ C, ¹⁵ N	1mL	20,000
A41-0074	アミノ酸混合物水溶液-UL- ¹⁵ N,d	1mL	18,000	A92-0129	アミノ酸混合物水溶液-Lys,Leu-UL- ¹³ C, ¹⁵ N	1mL	20,000
A40-0073	アミノ酸混合物水溶液-UL- ¹³ C, ¹⁵ N	1mL	30,000	A108-0145	アミノ酸混合物水溶液-SeMet	1mL	ご相談

培地

- D-Glucose (¹³C, d)
- Salts (¹⁵N, d)
- Deuterium Oxide 99.9atom%

核酸

- NTPs / NMPs (¹³C, ¹⁵N, d)
- Phosphoramidites (¹³C, ¹⁵N, d)
- RNA・DNAオリゴマ合成

アミノ酸・ケト酸

- L-Amino Acids (¹³C, ¹⁵N, d)
- Algal Amino Acids (¹³C, ¹⁵N, d)
- α-Keto Acids (¹³C, d)

その他

- Pf1 NMR Cosolvent
- Tris-d₁₁, MES-d₁₃, HEPES-d₁₉
- Water-¹⁷O (10-90atom%)

※各種製品を取り揃えておりますのでお気軽にお問い合わせください。

製造・総販売元

大陽日酸株式会社 SI事業部

〒142-8558 東京都品川区小山1-3-26 東洋Bldg.
Tel.03-5788-8550 (代表) Fax.03-5788-8710

●資料のご請求は、大陽日酸までお気軽にご用命ください。

メールアドレス Isotope.TNS@tn-sanso.co.jp

ホームページアドレス <http://stableisotope.tn-sanso.co.jp>

