

「世界最高性能 NMR 装置でタンパク質の NMR 計測を開始」

- 機構の 920 MHz NMR マグネットが理研と日本電子の協力を得て本格稼働 -

平成 14 年 8 月 23 日

独立行政法人 物質・材料研究機構

1. 概要

独立行政法人物質・材料研究機構（理事長：岸 輝雄、以下では物材機構）強磁場研究センター（センター長：和田 仁）では、日本電子(株)と連携し、理化学研究所ゲノム科学総合研究センターの協力を得て、世界最高の磁場(21.6 T)で動作する 920 MHz 高分解能 NMR(核磁気共鳴:Nuclear Magnetic Resonance の略)スペクトロメータの運用を開始した。これまでの測定により、世界最高の磁場に相応しい NMR の測定結果が得られており、ポストゲノム研究の最重要プロジェクトであるタンパク質の立体構造・機能解析およびこれを利用した新薬の創製に威力を発揮すると期待される。

最新の結果は、8月25日からカナダ・トロントで開催される生体システムの磁気共鳴に関する国際会議（International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems）で発表される。

2. これまでの研究背景

物材機構では、文部科学省の超伝導材料研究マルチコアプロジェクト第2期（平成7年度～平成13年度）の一環として、従来のレベルを超える強磁場超伝導 NMR マグネットの開発を進めてきた。この過程において強磁場で大電流を通電できる線材と、大きな電磁力に耐えることのできる線材という2種類の新しい Nb₃Sn 超伝導線材を開発した。これらの線材を使用することにより、従来のレベルを超えた強い磁場を発生することのできる NMR マグネットを作製し、2001年6月、世界で初めて 920 MHz（発生磁場 21.6 T）の永久電流モードで運転することに成功した（既報）。さらに NMR 測定において決定的に必要な磁場の時間的な安定度と空間的な均一度も、タンパク質構造解析に十分な性能であることを確認した。以上のことから、わが国のタンパク質の立体構造・機能解析を加速するために、世界最高の 920 MHz NMR スペクトロメータとして運用することが決定された。

3. この度の成果内容

NMR マグネットは2001年12月に物材機構桜地区に新しく建設された非磁性実験棟に移設され(図1及び図2参照)、2002年4月に再び920 MHzの永久電流モードの運転を開始した。磁場の空間的な均一度の調整と時間的な安定度の確認を実施したところ、昨年度の結果を上回る性能を示した(図3参照)。磁場の時間的な変化は100年間運転しても0.2%以下と非常に小さく、直径10 mm、高さ20 mmの試料が置かれる部分での磁場の空間的な誤差も1千万分の1以下であった。これは磁気シールドを施した専用実験棟に設置されたことで、設置環境が向上した影響も大きい。

分光計と検出器(プローブ)の開発は日本電子(株)が担当し、分光計を組み込んだプロトンのNMRの観測を2002年7月から共同研究として開始した。感度を測定するために一般に使用されるエチルベンゼンの測定結果としてS/N(信号とノイズの比)が2981と非常に高い結果が得られている(図4参照)。この測定結果は、同社の600 MHz装置(ポストゲノム研究で最も一般的に使用されるNMR装置)と比較して約2倍である。図5にはポリペプチドの一種であるグラミジジンSについて従来のスペクトロメータのスペクトルと比較しているが、より微細な情報が得られている。

タンパク質を試料としたNMRの測定についても、理化学研究所ゲノム科学総合研究センターの協力を得て、リゾチーム(細菌の細胞壁を分解する酵素の一種で、我々の体を細菌から防御する働きがあることから、風邪薬に含まれることもある。)などの計測が開始されており、従来のNMRスペクトロメータと比べてより微細な構造の情報が得られている(図6参照)。例えば、図6に示す個々の等高線シグナルは水素間距離が5 Å以内に存在する場合に観測されるNOEシグナルを示しているが、600 MHzの場合と比較して1.5倍程度の構造情報が得られている。今後理化学研究所ゲノム科学総合研究センターと共同で、タンパク質の構造解析に利用できる装置を仕上げ、タンパク質の構造解析に活用していく予定である。

900 MHz(21.1 T)を超えるNMRマグネットでは、強磁場における超伝導線材の性能が決め手となるため、その開発によって成否が決まる。物材機構では今後2号機の開発を予定しているが、これを除くと、しばらくの間、本スペクトロメータを超える磁場を発生するNMRスペクトロメータは出現しないと予想される。物材機構の有する超伝導線材の研究開発能力が、ライフサイエンス分野におけるわが国の国際競争力の基盤を提供したことになる。

4．波及効果

ポストゲノム研究としてタンパク質の機能を司る立体構造・機能の解明が重要視されている。NMR は X 線回折と並ぶタンパク質立体構造と機能の主要な解析手段であり、発生磁場が強くなるほど得られる信号の感度と分解能が上昇する。加えて、大きな分子量のタンパク質に対しては TROSY 法(横緩和最適化法)と呼ばれる特殊な NMR 実験法が必要だが、その有効性は磁場の大きさに対して強い依存性があり、1.05 GHz でその効果が最大になると理論的に予想されている。ポストゲノム研究の中・後半期では解析対象となるタンパク質が高等動物由来のものに大きくシフトし、分子量が大きくかつ不安定で結晶化し難い試料が増大すると予想されている。900 MHz 超級 NMR 装置ではその機能解析が可能になるので、NMR 法の対象とするタンパク質の種類が増加することになる。このため理化学研究所ゲノム科学総合研究センターのタンパク質構造・機能研究グループが実施するタンパク質の立体構造・機能解明に活用される予定である。超伝導 NMR スペクトロメータの最高性能機種が世界に先駆けて日本で開発されたことは、X 線回折装置として世界最高性能を有する SPring-8 とともに、タンパク質の機能解明とその先にある画期的な新薬創製にとって最強の研究ツールがわが国に揃うことを意味し、ライフサイエンス分野における技術開発競争に大きく展望を拓くものである。920 MHz NMR マグネットはその優れた性能から、既にその導入の可能性について諸外国からも問い合わせがあり、NMR スペクトロメータの最高機種がわが国の技術で完成されれば、その意義は極めて大きい。

5．今後の展望

物材機構強磁場研究センターでは、TROSY 法が最も効果的となる 1.05 GHz (24.7 T) を目標として、さらに強い磁場で使用できる超伝導線材の開発に取り組んでいる。既に 2 号機の開発を予定しており、2 号機の立ち上げ後には 1 号機を改造し、物材機構で開発した新しい超伝導線材を使用することで、より強い磁場を発生する装置を開発し、理化学研究所ゲノム科学総合研究センターと共同でタンパク質の構造・機能解析に活用していく計画である。

< 補足説明 > NMR スペクトロメータ

NMR スペクトロメータは大きく外部磁場を発生するマグネットとプローブを含む分光計システムから構成される。

NMR マグネットは MHz という周波数の単位で呼ばれるため誤解されやすいが、発生する磁場は時間的に一定である。さらに、測定する試料全体に対して磁場は均一でなくてはならない。この一様な磁場に置かれた試料に対して、ある周波数の電磁場を加えると、特定の原子核との間で共鳴現象（核磁気共鳴：Nuclear Magnetic Resonance）が起こる。代表的な水素の原子核の場合、2.3487 T の磁場中で 100 MHz の周波数の電磁場に共鳴する。共鳴する周波数は磁場に比例することから、この 9 倍の 21.1 T の磁場を発生するマグネットを 900 MHz のマグネットと称する。

分子を構成する原子は、同じ核種でも分子中での位置が異なると、化学結合の違いなどによってそれぞれの原子核の感じる磁場が微妙に異なり、それが得られるスペクトルに反映される。これを観測してタンパク質などの構造を決定していく。

磁場が大きくなり、対応する共鳴周波数が増加すると感度と分解能が向上するため、より微細な構造の決定や微量試料の分析が可能となる。また分子量の大きなタンパク質は NMR による構造解析が困難であるという欠点があるが、これを克服する有力な手段が磁場の増加である。特に最近、解析可能な分子量を劇的に増加する新しい測定方法が提案された（TROSY 法）。本手法は磁場の増加とともに分解能を劇的に向上し、1 GHz（23.5 T）を超えた辺りで最も有効とされているため、磁場の増加に大きな期待が寄せられている。

NMR マグネットは測定時間中に磁場が変化することが許されない（100 年間運転しても磁場変化が 1% 以下）。このため、電気抵抗ゼロで電流が減衰せず、磁場が変動しない超伝導の特長（永久電流）が利用される。従って、NMR マグネットでは、超伝導線材を接続する技術（接続箇所抵抗が発生）が非常に重要である。また、分子内の化学結合などによる微少な磁場の变化を観測するため、外から試料に加える磁場は均一であることが要求される。

(問い合わせ先)

独立行政法人物質・材料研究機構

広報・支援室

〒305-0047 茨城県つくば市千現 1 - 2 - 1

TEL : 0298-59-2026

FAX : 0298-59-2017

(研究内容に関すること)

独立行政法人物質・材料研究機構

強磁場研究センター 磁場発生技術グループ

グループリーダー 木吉 司 (TEL : 0298-59-5084)

研究員 松本真治 (TEL : 0298-59-5083)

付図

- 図 1 NMR マグネット本体写真と非磁性実験棟 1 階配置図。
- 図 2 磁気シールドと非磁性実験棟 2 階配置図。
- 図 3 920 MHz での磁場の空間的な均一度と安定度のデータ。
- 図 4 エチルベンゼンのスペクトル。
- 図 5 グラミシジン S のスペクトルの比較。
- 図 6 NOESY という手法で測定した卵白リゾチームの 2 次元スペクトル。
NOESY のデータから原子核間の距離の情報を得ることができる。

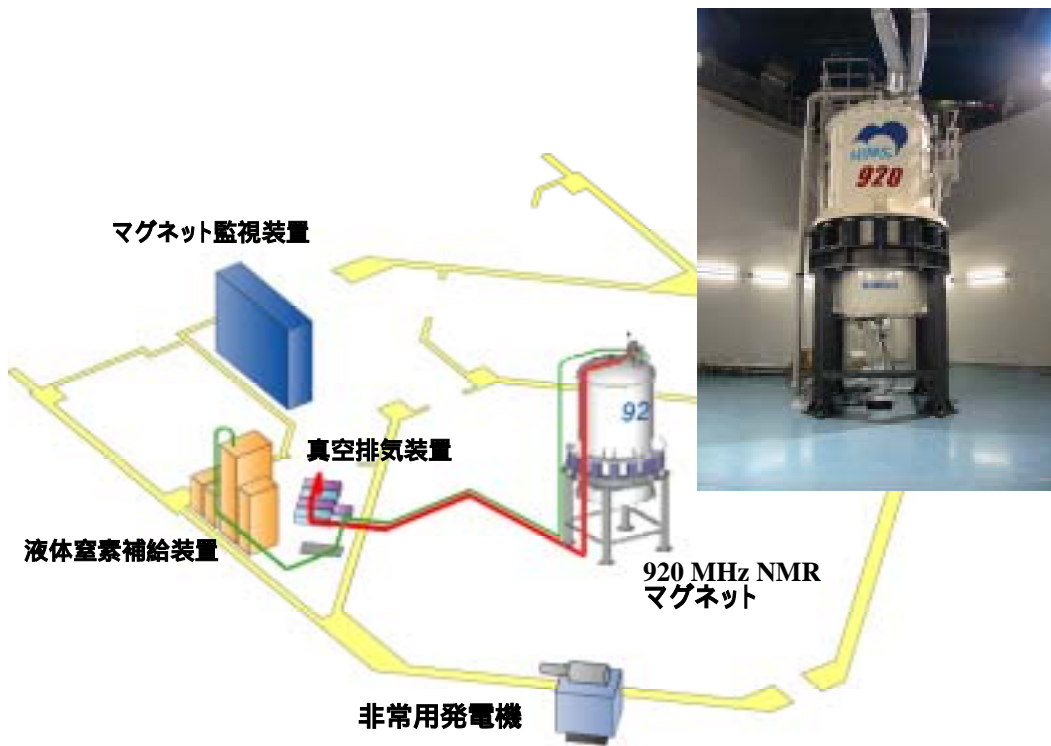


図1

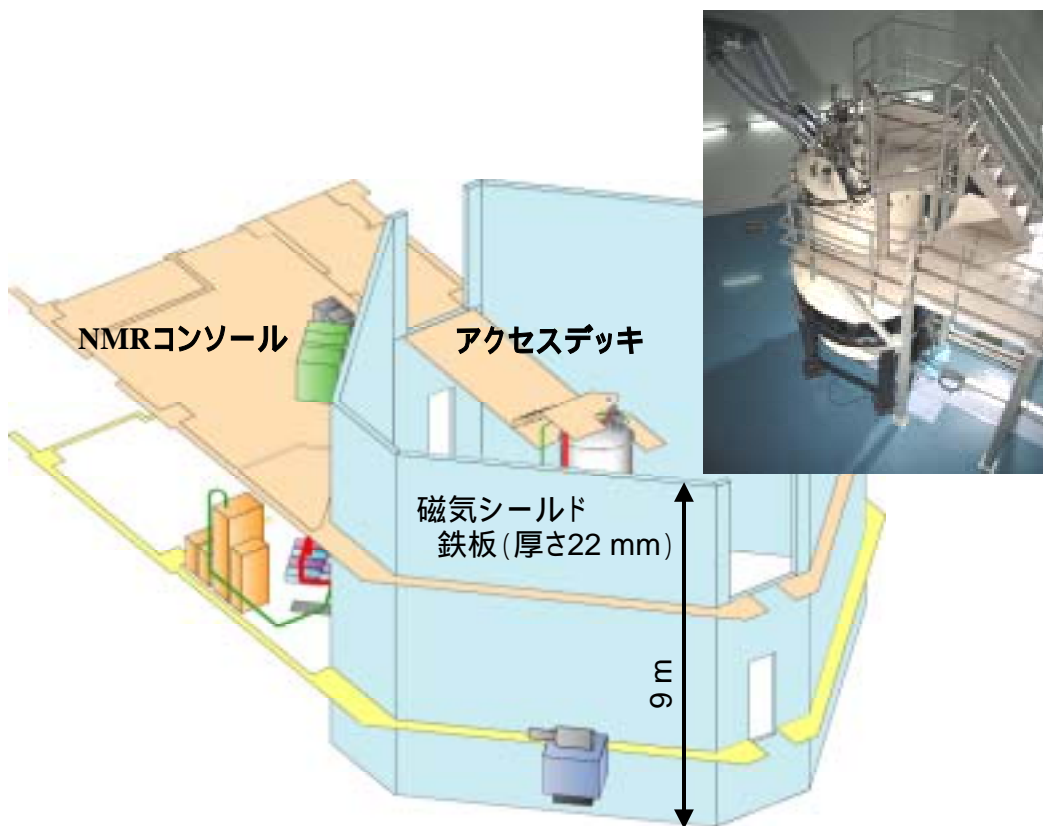


図2

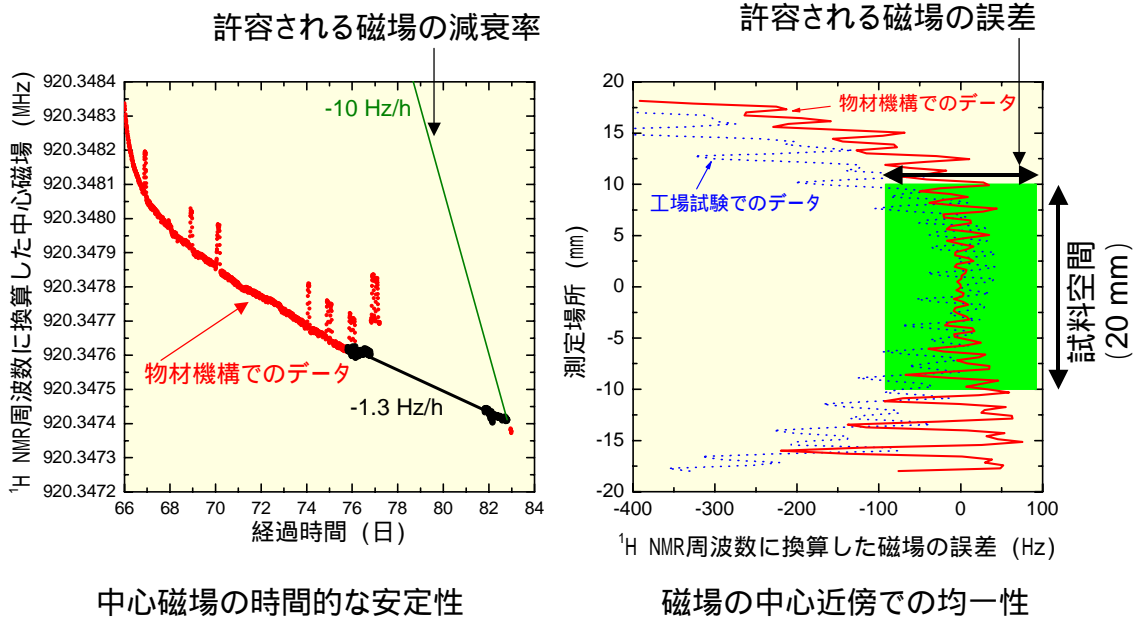


図3

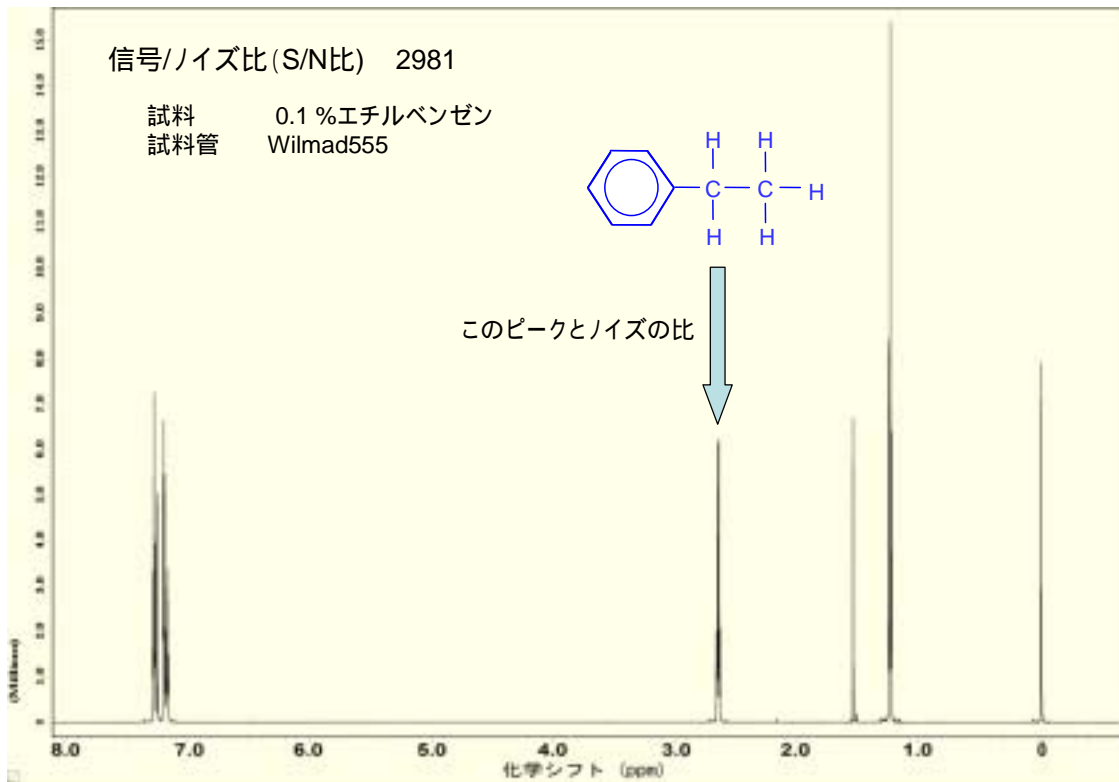
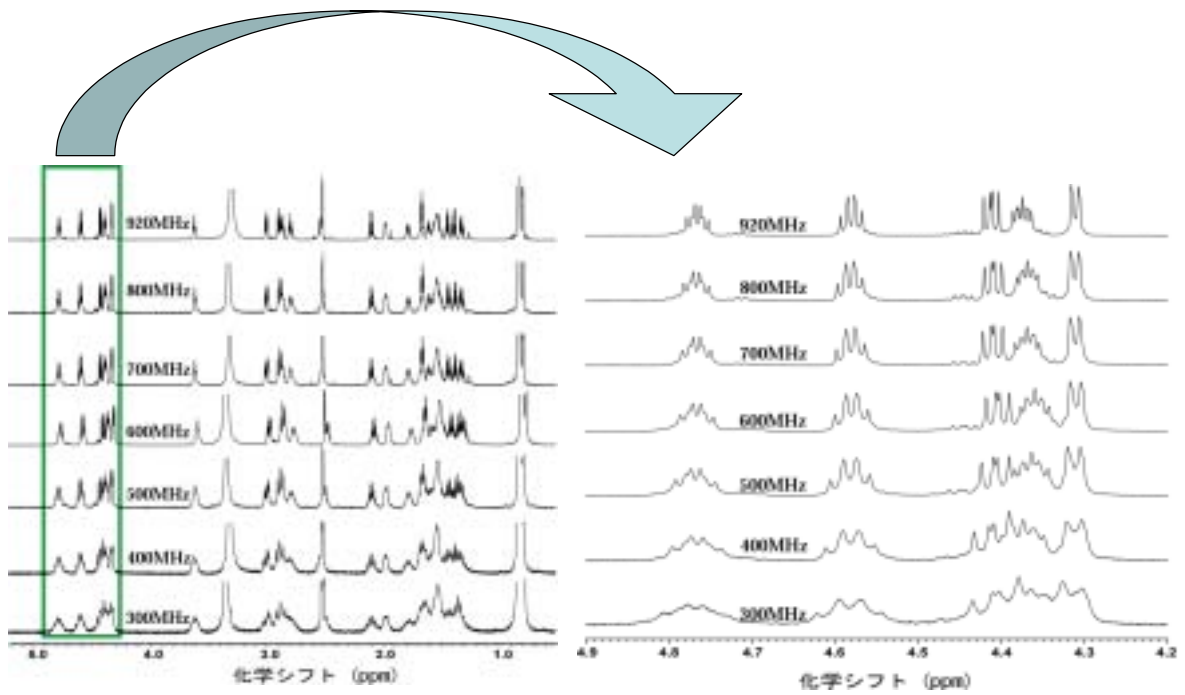
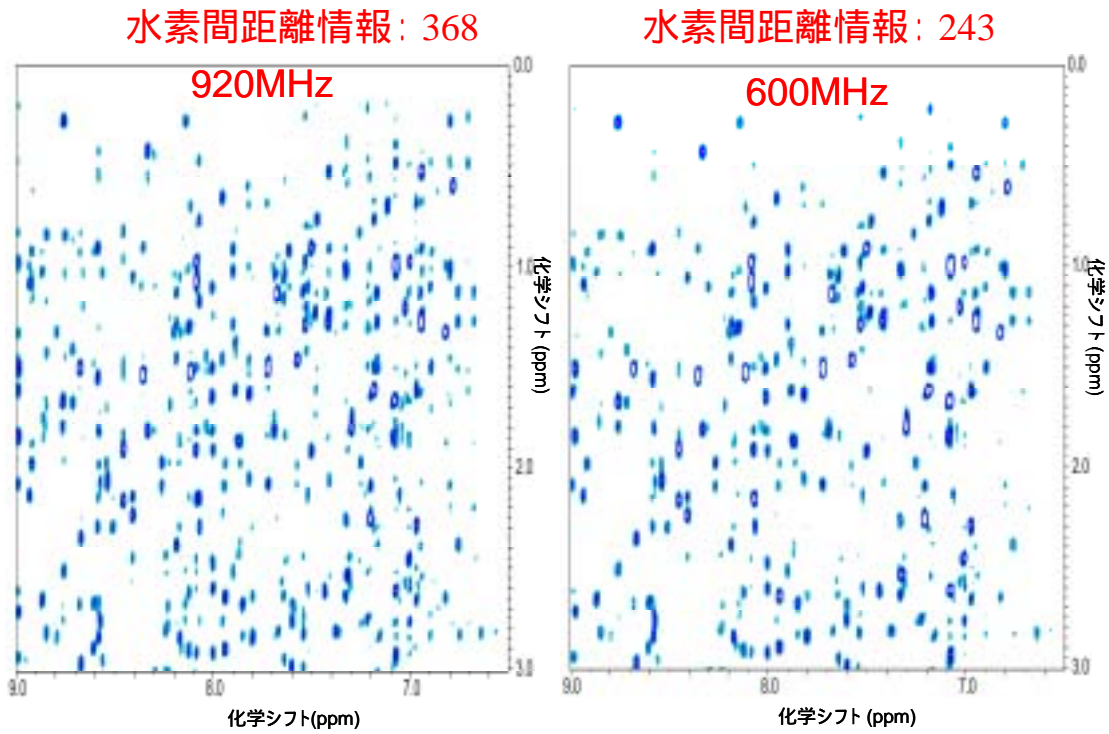


図4



グラミジジン S
濃度: 5 mg/0.6 ml DMSO-d₆

図5



卵白リゾチームのNOESY スペクトルの比較
濃度1mM, 拡大図

図6