

ディビジョン番号	1
ディビジョン名	物理化学

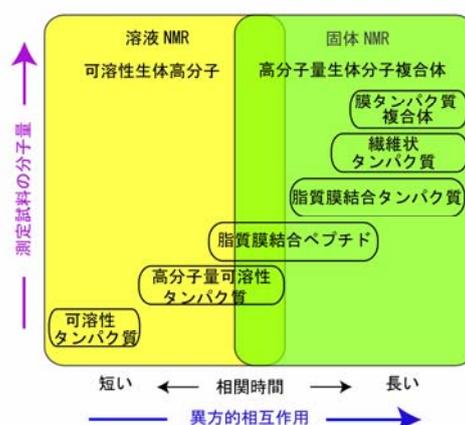
大項目	1. 分子分光学および分子集合体の構造
中項目	1-4. 磁気共鳴
小項目	1-4-3. 生体高分子 NMR

### 概要（200字以内）

溶液NMR は磁場配向溶媒中での残余双極子相互作用観測による構造情報取得、高磁場下で可溶性高分子量分子の先鋭な信号を得る測定法開発が新たな構造解析に道を開いた。

一方、固体NMR はマジック角試料回転条件下、または配向試料を対象とした相関NMR法が多数開発され、成熟しつつある。また有効な膜タンパク質解析結果も報告されている。

溶液、固体NMR共に高磁場と異方的相互作用の扱いが重要な役割を担っている。



### 現状と最前線

水溶性生体分子の3次元構造決定は溶液NMR測定、および一連の解析ソフトウェアと制限付き分子動力学計算により立体構造決定までの過程は完成されている。重要な研究対象は次第に高分子量分子へとシフトし、回転相関時間増加に伴う短い横緩和時間が問題となったが、安定同位体標識技術を積極的に取り入れた試料調製や新規測定法の開発により克服されてきた<sup>1)</sup>。研究の最前線では研究対象がさらに高分子量へとシフトし、異方的相互作用の影響を削減、または積極的に利用する技術の開発がさかんに行われている。近年構造決定のための抑制因子として生体高分子が磁場配向性溶媒中で生じる残余双極子相互作用の観測が考案され<sup>1)</sup>、さらに詳細な構造解析が可能になった。またさらに深刻となった短い横緩和時間による信号の広幅化を克服するために、化学シフト異方性と磁気双極子相互作用による緩和効果の干渉により生じる先鋭な信号を観測する測定法（TROSY法）<sup>1)</sup>などが開発された。この方法は、最小の線幅を与える条件が現在の静磁場強度上限の付近にあるために、近年の超高磁場技術の発展とともに、極めて有効な手段となっている。しかし超高磁場装置は一研究室レベルで所有が不可能であり、高分子量試料の溶液NMRはまだ多くの成果報告には至っていない。今後、国内外共に共同利用施設の有効活用により益々発展すると思われる。

しかし含水試料でも膜タンパク質、アミロイドなどの巨大分子に対しては、溶液NMRは有効な手法ではなく固体NMR測定が必要である。固体NMRでは溶液NMRのような確立された構造

解析手法は現在もなお存在しない。十分な異方的相互作用が存在する試料では各々の信号が複雑な線形を与えるため、試料を静磁場に対してマジック角 54.7 度傾け高速回転させるマジック角回転 (MAS) で異方的相互作用を時間平均して先鋭な信号を得る手法が一般的である<sup>1,2)</sup>。最新の研究では試料回転速度に同期して特定のラジオ波強度を持つパルスの連続照射により復活させた磁気双極子相互作用を用いた等方化学シフト値を軸に持つ相関 NMR スペクトルを測定する手法で、溶液 NMR の手法と同様に複数の大凡の原子間距離情報を取得して構造決定する手法開発が広く試みられている<sup>1,2,3)</sup>。一方、部位特異的標識試料を用いた精密原子間距離測定も可能であり、これらの技術を結集してタンパク質の微結晶や低水和粉末試料およびアミロイド等の繊維化タンパク質での立体構造解析結果が多数報告されている<sup>1,2,3)</sup>。また生理学的により重要な十分に水和した系についても、界面あるいは水溶液に突出した部位を含め、部位特異的安定同位標識とコンホメーション依存シフトに基づく構造解析および、ミリ、マイクロ秒の時間尺度の揺らぎの検出が可能であり、物質輸送、信号伝達機構の解析を可能にしている<sup>2,3)</sup>。

一方、自発磁場配向脂質系またはガラス薄板上に機械的に脂質膜を配向させた静止条件下の試料で双極子相互作用の磁場に対する角度依存性を示す双極子磁場分離スペクトルの解析から、膜貫通部位の立体構造解析で報告数は少ないが大きな成果を創出している<sup>2,3)</sup>。MAS を用いた等方化学シフト値を観測する手法と異なり、化学シフト異方性の軸は高磁場化に伴い信号分離が著しく改善することから更なる発展が期待される。

また生体試料では高速試料回転、およびラジオ波照射による誘電損失に伴う試料発熱が近年の高磁場化に伴い顕著化しているが、低出力ラジオ波を用いた測定法や電場成分の試料への集中を回避するデザインのコイルを用いたプローブの具現化に成功している。今後より多くの膜タンパク質を対象とした研究成果の報告が期待される。

- 1) 第 5 版実験化学講座 8 NMR・ESR 日本化学会編 (2006)
- 2) H. Saito et al. Solid state NMR for Biopolymers, Springer (2006)
- 3) Modern Magnetic Resonance, ed. by G. A. Webb, Springer (2006)

#### 将来予測と方向性

・ 5 年後までに解決・実現が望まれる課題

1. ハイスループット構造決定、運動性解析が可能な固体 NMR 測定法、解析法開発。
2. 超高磁場測定による新規測定法、解析法、試料調製法の開発。

・ 10 年後までに解決・実現が望まれる課題

1. 膜タンパク質複合体のような巨大分子の解析が可能な測定法、解析法の確立。
2. 生理活性のある試料条件下で著しい測定感度向上を実現する測定法、周辺機器開発によるブレークスルー技術の開発

#### キーワード

膜タンパク質、立体構造解析、溶液 NMR、固体 NMR、異方的相互作用

(執筆者： 西村 勝之 )