

ディビジョン番号	8
ディビジョン名	生体機能関連化学・バイオテクノロジー

大項目	1. 生体機能関連化学
中項目	1-9. 構造生物化学
小項目	1-9-3. NMR 構造解析

概要（200字以内）	
<p>NMR 分光法による生体高分子の構造解析とは、タンパク質や核酸のNMRのシグナルを多次元NMRと連鎖帰属法を用いて同定し、そのシグナル間の核オーバーハウザー効果（NOE）を観測することで、プロトン間距離情報を得る。さらに、カップリング定数から角度情報などを取得した後、それらを構造制限情報としてディスタンスジオメトリー計算や分子動力学計算をすることで、タンパク質の安定構造を決定する方法である。</p>	<p>NMRによるタンパク質構造決定の流れ</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 安定同位体ラベルされたタンパク質の精製</li> <li>2. 多次元NMR測定</li> <li>3. NMRシグナルの連鎖帰属</li> <li>4. NOE距離情報の取得</li> <li>5. 距離制限付き分子動力学計算</li> </ol>
現状と最前線	
<p><sup>1</sup>H-NMRだけを用いた方法では、分子量1万程度のタンパク質、核酸の構造決定が限界であった。1990年代以降、大量発現系の構築と<sup>13</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>2</sup>Hなどの安定同位体ラベルを組み合わせたサンプルの準備が一般的になり、三次元、四次元NMRの手法が次々と開発された。そして、ハードウェアも、NMRの分光機器のデジタル化により、ダイナミックレンジの改善や、ベースラインのフラット化、パルスフィールドグラジエントNMRの手法などを組み合わせることで、分子量3万程度のタンパク質まで構造解析が日常的に可能となった。その後、20テスラ以上の超高磁場の超伝導磁石や、液体ヘリウムでNMRプローブを冷却し高感度測定を可能にしたクライオプローブなどの開発によって、高感度化が進み、微量なサンプル量での構造決定が可能になってきている。理化学研究所が主導したタンパク3000のプロジェクトでは、X線結晶構造解析とともにタンパク質構造解析の柱としてNMR構造解析も重要な役割を果たしている。NMRを用いた構造解析の大きな障壁は、サンプルの分子量が3万を超えてくると分子の回転相関時間が遅くなるため、シグナル線幅が増大し、シグナルが重なり、精密な構造情報が得られないことである。タンパク質構造解析の最前線においては、その問題を解決するために、TROSY (Transverse Relaxation Optimized Spectroscopy) という方法などがノーベル賞受賞者である K. Wüthrich らによって提唱され、分子量が100万近いタンパク質複合体などに応用されている。そのほか、A. Bax らによって大きなドメインの配向を決定するのに残余双極子相互作用を測定することなども提唱され、いくつかの巨大タンパク質に応用されている。</p>	

NMR 装置の近年の重要な開発

1. デジタル化
2. パルスフィールドグラジエント
3. クライオプローブ
4. 20 テスラ以上の超高磁場化

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

膜タンパク質の NMR による動的構造解析

1.2 GHz の超高磁場 NMR の開発

廉価版クライオプローブの開発

- ・ 10 年後までに解決・実現が望まれる課題

固体 NMR によるタンパク質構造解析法の確立

キーワード

連鎖帰属法、核オーバーハウザー効果、安定同位体ラベル、分子動力学計算

(執筆者： 金折 賢二 )