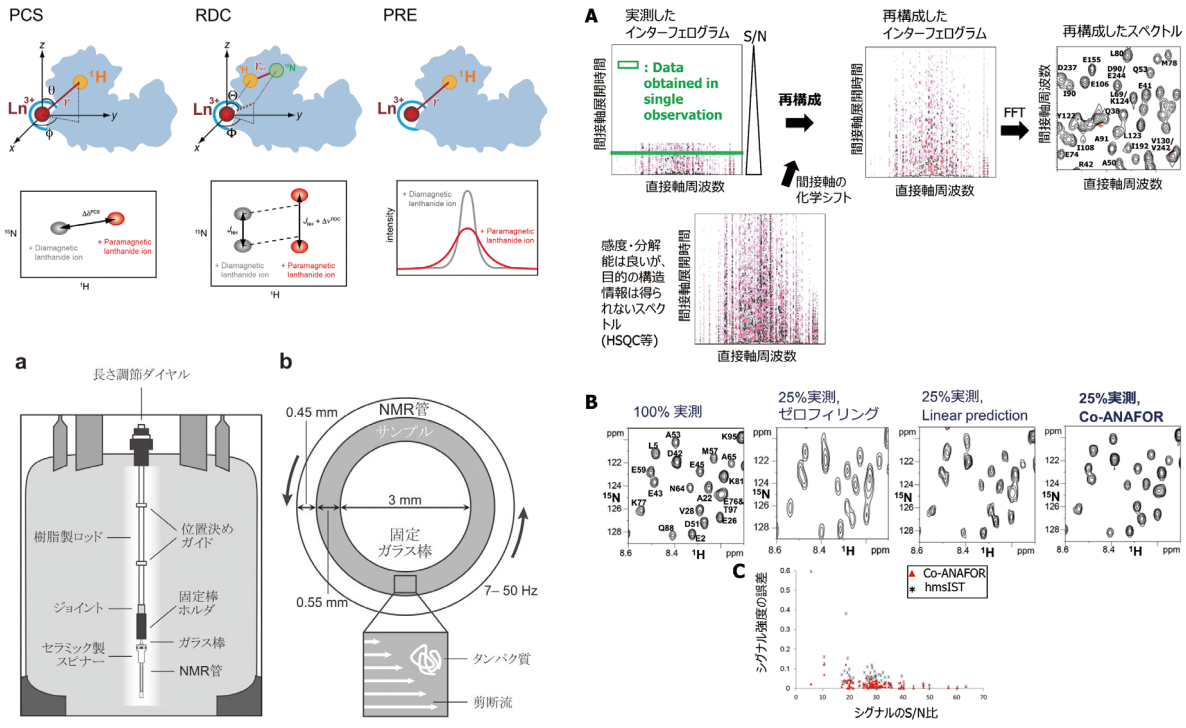
NMR

Bulletin of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan

Vol.13 No.1 August 2023

http://www.nmrj.jp

会長メッセージ　藤原敏道
巻頭エッセイ　若松馨
総説論文：解説　上田卓見、齋尾智英、森本大智
NMR講座：NMR基礎講座　池上貴久、武田和行
NMR講座：NMR史点描　寺尾武彦
2022年度学会顕彰：進歩賞
会員便り：研究室便り　川越聡一郎、越野広雪、三島正規
会員便り：若手NMR研究会便り　山置佑大
会員便り：海外学会参加報告　Pooppadi Maxin Sayeesh



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

表紙の図

（左上）：徳島大学先端酵素学研究所　齋尾 智英先生
“常磁性ランタノイドイオンを用いたタンパク質の構造解析”より

（左下）：京都大学大学院工学研究科　森本 大智先生
“NMRによるアミロイド形成の原子レベル機構解明”より

（右）：　東京大学大学院薬学系研究科　上田 卓見先生
“GPCRの活性と直結する動的構造平衡の解明”より

広告掲載一覧

（申し込み先着順）

大陽日酸 株式会社

NMRプラットフォーム
（文科省 先端研究基盤共用促進事業）

日本電子 株式会社

株式会社 シゲミ

ブルカージャパン 株式会社

Magritek

株式会社 エルエイシステムズ

本学会機関誌へのご賛助に対しまして、厚く御礼申し上げます。

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品質・お求め易い価格で販売しております。

無細胞タンパク質受託合成

細胞内タンパク質、分泌系タンパク質、膜タンパク質合成を承ります。
弊社HPの専用フォームより簡単にご依頼いただけます。

- 鋳型DNA設計・作製
- 条件検討試験
- 発現・可溶性確認試験
- 大スケール合成

無細胞くん®

理化学研究所の高度な無細胞タンパク質合成技術をキット化いたしました。大腸菌抽出液を用いており、抗体や膜タンパク質などをはじめ各種タンパク質を迅速・簡便に大量合成し、高効率に安定同位体標識できます。

■無細胞くんStart特徴

無細胞タンパク質合成をお手軽にお試しいただけます。小スケール（0.1mL）反応を付属の微量透析カップで6回実施できます。発現量や可溶性の確認および条件検討用に最適です。

製品番号	製品名	数量	保存温度	希望納入価格(円)
A183-0242	無細胞くんStart	1キット (0.1mL反応×6回分)	−80℃	28,000
A89-0126	無細胞くんSI SS	1キット (1mL反応×1回分)	−80℃	65,000
A29-0059	無細胞くんSI	1キット (1mL反応×1回分)	−80℃	55,000

◎ PCRで調製した**直鎖状DNA**もご使用いただけます。

国立研究開発法人 科学技術振興機構「産学共同シーズイノベーション化事業」の支援を受け、開発された製品です。

無細胞くん用 安定同位体標識アミノ酸・膜タンパク質合成用試薬

■SAIL メチル・芳香族選択標識

製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)
SAT2001	SAIL アミノ酸混合物水溶液	1mL	220,000
G07-0226	[δ2-$^{13}CH_3$,^{2}H]Leu＋[γ1-$^{13}CH_3$,^{2}H]Val＋18種重水素標識アミノ酸	1mL	120,000

■各種安定同位体標識アミノ酸

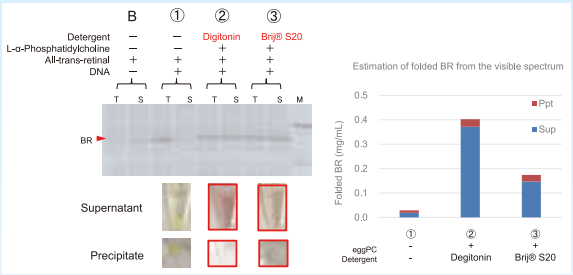
製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)
A107-0144	アミノ酸混合物水溶液-UL-d	1mL	25,000
A39-0072	アミノ酸混合物水溶液-UL-^{15}N	1mL	15,000
A41-0074	アミノ酸混合物水溶液-UL-^{15}N,d	1mL	18,000
A40-0073	アミノ酸混合物水溶液-UL-^{13}C,^{15}N	1mL	30,000
A42-0075	アミノ酸混合物水溶液-UL-^{13}C,^{15}N,d	1mL	35,000
A91-0128	アミノ酸混合物水溶液-Lys,Arg-UL-^{13}C,^{15}N	1mL	20,000
A92-0129	アミノ酸混合物水溶液-Lys,Leu-UL-^{13}C,^{15}N	1mL	20,000
A108-0145	アミノ酸混合物水溶液-SeMet	1mL	12,000
20種類のアミノ酸を含有しております。			

■膜タンパク質合成用試薬

製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)
A226-0290	膜タンパク質合成用添加剤 Set A	1キット	20,000

膜タンパク質 発現例

Bacteriorhodopsin



Purplish brown color represents proper folding of Bacteriorhodopsin.

用途例

◎ スクリーニング用多検体発現、細胞毒性タンパク質発現、変異体発現
◎ 多次元NMR、クライオ電子顕微鏡、X線回折、中性子線回折等による構造解析用タンパク質発現
◎ 質量分析用安定同位体標識タンパク質発現

核酸

- **10%, 20% Phosphoramidites (^{13}C, ^{15}N, d)**
- NTPs / NMPs (^{13}C, ^{15}N, d)
- RNA・DNAオリゴマ合成

アミノ酸・ケト酸

- L-Amino Acids (^{13}C, ^{15}N, d)
- Algal Amino Acids (^{13}C, ^{15}N, d)
- α-Keto Acids (^{13}C, d)

培地

- D-Glucose (^{13}C, d)
- Salts (^{15}N, d)
- Deuterium Oxide 99.9atom%

その他

- Coming Soon! **Deuterated NDSB**
- **Lanthanide Tag**
- Water-^{17}O (10-90atom%)
- Pf1 NMR Cosolvent

※Biomolecular NMR専門カタログをご用意し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** イノベーションユニット SI事業部
〒108-0014 東京都港区芝 5-30-9 藤ビル
TEL.03-5439-5897 Fax.03-5439-5883
メールアドレス Isotope.TNS@tn-sanso.co.jp
ホームページアドレス https://stableisotope.tn-sanso.co.jp
●資料のご請求は、大陽日酸までお気軽にご用命ください。

大陽日酸 The Gas Professionals
ISOTEC™

文部科学省「先端研究基盤共用促進事業（先端研究設備プラットフォームプログラム）」

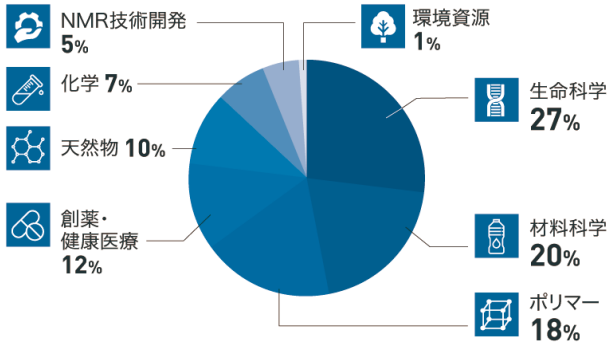
NMR PLATFORM

8機関がもつ先端的なNMR設備と関連技術を提供します

NMRプラットフォームを利用すると

- ◆特色ある全国の機関にワンストップでアクセスできます
- ◆各機関常駐の専門スタッフによるサポートがあります
- ◆遠隔操作・自動測定により、災害時・行動制限下での利用も可能です
- ◆ヘリウム不足問題解消、大型機器導入・維持管理削減につながります

今まで利用された分野例



※2017-2021年の5年間における理化学研究所NMR装置外部利用の課題数を元に計算

まずはお気軽にお問い合わせください

https://nmrpf.jp/

NMR分析に光をもたらす…

最新型 NMR分光計 ECZ Luminous

ECZ Luminous G
400 MHz～1300 MHz

- 全ての拡張性に対応したハイエンドモデル
  Foot printはECZの半分に！

ECZ Luminous R
400 MHz～600 MHz

- 600 MHzまでの高磁場に対応し、
  溶液NMRだけでなく、
  固体NMRまでを可能とした超小型分光計

ECZ Luminous S
400 MHz

- 溶液NMR専用のエントリーモデル

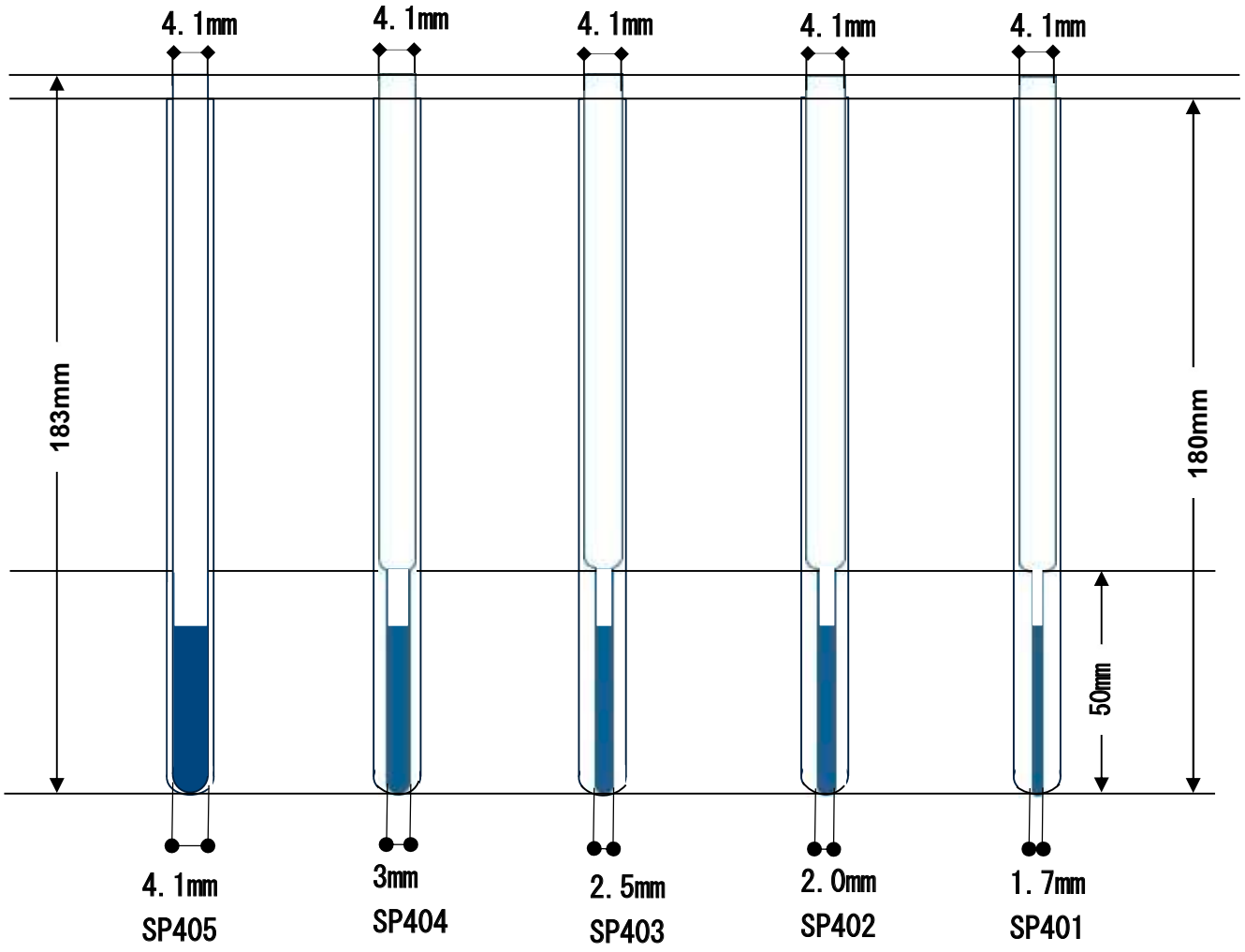
JEOL 日本電子株式会社

本社・昭島製作所　〒196-8558　東京都昭島市武蔵野3-1-2　TEL:(042)543-1111(大代表)　FAX:(042)546-3353
www.jeol.co.jp　ISO 9001・ISO 14001 認証取得

JEOLグループは、「理科学・計測機器」「産業機器」「医用機器」の3つの事業ドメインにより事業を行っております。
「理科学・計測機器事業」電子光学機器・分析機器・計測検査機器　**「産業機器事業」**半導体関連機器・金属3Dプリンター・成膜関連機器/材料生成機器　**「医用機器事業」**医用機器

5mmφ同軸ＮＭＲチューブセット

セット販売にいたしましたので、別々に購入する煩わしさがございません。
以前の同軸試料管よりパスツールが入れやすくなりました。スペーサーも必要有りません。
5mmφ用のキャップをかぶせることができます



外管 PS-001-7(外径 5mm)とテフロンキャップ(CT-005)のセット販売です。

型式	全長	上部外径	下部長さ	下部外径	下部内径	下部内径公差	価格１セット
SP-401	183mm	4.1mm	50mm	1.7mm	1.2mm	±0.01mm	5,850 円
SP-402	183mm	4.1mm	50mm	2mm	1.5mm	±0.01mm	5,850 円
SP-403	183mm	4.1mm	50mm	2.5mm	1.9mm	±0.01mm	4,850 円
SP-404	183mm	4.1mm	50mm	3mm	2.5mm	±0.01mm	4,850 円
SP-405	183mm	4.1mm	50mm	4.1mm	3.2mm	±0.01mm	4,850 円

株式会社 シゲミ

TEL:042-624-2207　FAX:042-622-0937
http://www.shigemi.co.jp
MAIL:info@shigemi.co.jp

核磁気共鳴法(NMR)

卓上型FT-NMR Fourier80

- 冷媒不要の永久磁石を採用
- 実験台やドラフト内に設置可能
- 優れた線形、分解能、感度
- グラジエントパルス標準搭載

使用場面

- 品質管理
- 合成物の確認
- 学生実験などの教育用

オプション

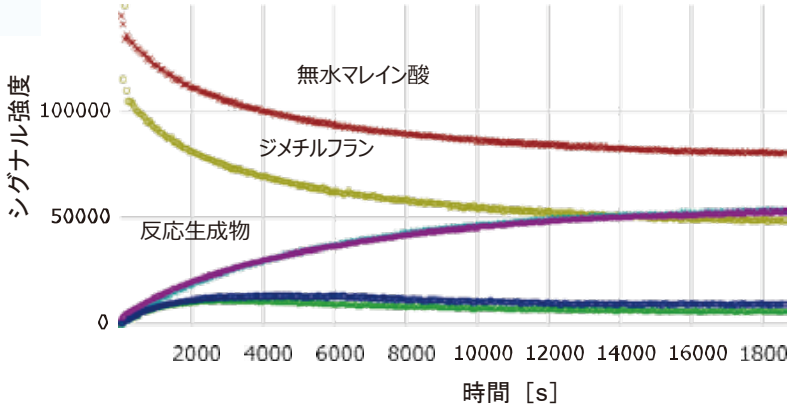
- 温度設定: 25℃ ~ 60℃
- 測定核種: ^{1}H, ^{1}H/^{13}C, ^{1}H/X
  ※対応核種はお問い合わせください
- 高分解能オプション: 0.11 %での線幅が15 Hz
- ^{1}H 特化モデル: ^{1}H 保証感度 240 : 1以上

フローシステム (Fourier RxnLab)

- 口径の広い流入口 / 流出口
- 耐圧 10 bar
- 流量 ~4 ml/min
- 特許取得済みの温度制御

Diels Alder 反応による生成物の反応モニタリング

ジメチルフラン　無水マレイン酸　反応生成物



ブルカージャパン株式会社

バイオスピン事業部
info.BBIO.JP@bruker.com
www.bruker.com

本社（横浜営業所）
〒221-0022 神奈川県横浜市神奈川区守屋町 3-9
TEL：045-444-1390

大阪営業所
〒532-0004 大阪府大阪市淀川区西宮原 1-8-29
TEL：06-6394-8989　テラサキ第 2 ビル 2F

Spinsolve 90 BENCHTOP NMR

ベンチトップNMRにおける画期的な卓越性を牽引

90 MHz Spinsolve

BENCHTOP NMR SPECTROSCOPY

Spinsolve 90 Benchtop NMRは、これまで以上の高感度・高分解能を実現しながら、実験台に載せられるコンパクト性を維持しています。

Magritekの直感的操作性を持ち機能が充実したソフトウェアには、ボタン一つで実行できる最先端の多核スペクトロスコピーメソッドが搭載されています。

これらのNMRシーケンスには、1D及び2Dメソッド (HSQC-ME, HMBC, COSY, TOCSY, ROESY, DEPT, NOAH, NUSなど) が含まれています。

また、日々のQC/QA作業やGxP操作用のオプションモジュールもご準備しています。

Spinsolve 90は、スループットを高めるオートサンプラーや、化学反応をモニタリングするためのフローセルセットアップなどのオプションも使用でき、必要な場所で高品質のNMRデータを提供します。

magritek

https://magritek.com/products/benchtop-nmr-spectrometer-spinsolve/spinsolve-90-mhz/

固体NMR 分光計, アクセサリー

分光計, 各種プローブ, ローター, サンプリングツール等を取り揃えています。

PHOENIXNMR

Elevating your science

Agilent/Varian T3プローブの正統派後継機

付替え可能な
プローブヘッド

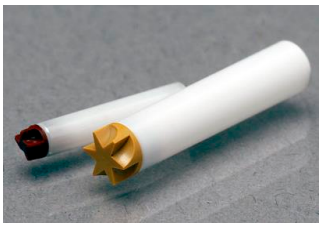
HXY Premium プローブ

Agilent用MASローター
（1.2mm – 9.5mm）

MASコントローラー

ROTOTEC SPINTEC

Brukerプローブに準拠



Bruker用MASローター
（2.5mm – 7mm）

キャップリムーバー
（1.3mm – 4mm）

Oリング付きキャップ
（左：Kel-F, 右：Vespel）

DOTY SCIENTIFIC

幅広い温度可変範囲 や 拡散プローブなど

高温MASプローブ

Diffusionプローブ

tecmag

TECHNOLOGY FOR MAGNETIC RESONANCE

各種 NMR分光計

LapNMR

SCOUT

REDSTONE

株式会社エルエイシステムズ　〒305-0047　茨城県つくば市千現1-17-1
TEL : 029-896-5270　E-mail : support@las.jp　URL : https://www.las.jp

NMR

Bulletin of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan

Vol. 13 No.1

August 2023

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

CONTENTS

●会長メッセージ
NMRの発展と学会の役割 …… 3
藤原 敏道

●巻頭エッセイ
ストレスを生む2種類の勘違い、他2題 …… 4
若松 馨

●総説論文：解説
GPCRの活性と直結する動的構造平衡の解明 …… 6
上田 卓見

常磁性ランタノイドイオンを用いたタンパク質の構造解析 …… 14
齋尾 智英

NMRによるアミロイド形成の原子レベル機構解明 …… 24
森本 大智

●NMR講座：NMR基礎講座
ベクトルモデルはどのぐらい信じてよいのか？ …… 32
池上 貴久

Q値が高いと感度がよくなるのではなく、感度がよいとQ値が高くなるのです …… 41
武田 和行

●NMR講座：NMR史点描
第二次世界大戦とNMR開発（下） …… 46
寺尾 武彦

●2022年度学会顕彰
進歩賞
「進歩賞」について …… 50

●会員便り：研究室便り
徳島大学 先端酵素学研究所 齋尾研究室 …… 51
川越 聡一郎

理化学研究所（和光地区）における分子構造解析ユニットの紹介 …… 53
越野 広雪

東京薬科大学薬学部 分子生物物理学教室 …… 56
三島 正規、青山 洋史、武田 光広、永江 峰幸

●会員便り：若手NMR研究会便り
第22回若手NMR研究会開催報告 …… 60
山置 佑大

●会員便り：海外学会参加報告
EUROMAR 2023 参加報告書 …… 63
Pooppadi Maxin Sayeesh

会長メッセージ

NMRの発展と学会の役割

大阪大学蛋白質研究所
藤原 敏道
tfjwr@protein.osaka-u.ac.jp

NMRは、物質の構造を原子スケールで解析する方法として、その装置も市販されて大学や民間企業で利用されている。また、イメージング法としては医用に広く使われている。これは、NMR法の感度や分解能などの性能が、この80年間に実験を支える科学技術の発展とともに大きく向上したことによっている。例えば磁石の向上で、静磁場強度は数十倍増大した。コンピュータなどIT技術の進歩で、複雑なパルス実験法が可能になり多次元NMRなどのデータ処理は高速化した。生体系への応用では、遺伝子工学で試料を同位体標識することが容易になり、複雑な系の解析が実用的になった。使う電磁波の周波数も高くなり、最近は高磁場で核スピンと同時にサブミリ波で電子スピンも共鳴でき、DNPなど高感度化に寄与している。光を用いた励起や観測では、さらに感度が向上する。他方で科学技術の発展は、電子顕微鏡など他の原子分解能の構造解析法の能力も向上させて、NMRの相対的重要性や利用法に大きな影響を与えている。このようなNMR法の歴史を見ても、実験技術を支える科学技術の進歩とともに、これからもNMRは大きく発展変化すると思える。

このようなNMR分野において、日本核磁気共鳴学会は、その基礎・応用研究やNMR普及を進める上で、研究者や利用者の交流を通じてコミュニティへ貢献することが役割である。主な行事として、NMR討論会を各地の研究者を世話人として開催している。ここでは関連企業も含めた研究や情報の交流を行うとともに、若手賞やポスター賞などにより次世代の担い手を顕彰している。また、若手会員の海外発表の援助や、情報交流としてニュースレター発行なども行っている。本学会の役割の一つは、海外の関連学会・コミュニティと連携することである。国際磁気共鳴学会ISMARや生体系の磁気共鳴学会ICMRBS、アジア太平洋地域の学会APNMRの日本開催には、積極的に協力してきた。2021年8月には、ISMAR、APNMR、電子スピン共鳴の学会であるSESTをNMR討論会と合同開催した。

NMR分野と科学技術が進展するなかで、学会のあり方もそれに合わせて変わる必要がある。コロナ禍への対応にも迫られて2021年のオンラインでの開催では、最近のIT技術で可能になった会議方式に取り組んだ。学会誌や要旨集も電子化して、効率化を進めている。これらは参加者・主催者の負担を軽くできる。また2019と2021年にSEST年会とNMR討論会を連携して開催など、今後NMRと関連分野の重点や学会間の協力関係も変化するだろう。他に、超高磁場マグネットや高磁場DNPなどを利用する先端的大型NMR装置については、有効活用のためにコミュニティでの共同的な利用を要して、学会も関与しうるだろう。もちろん、社会情勢から女性研究者の研究環境向上や留学生や外国籍研究者への配慮も求められる。

このように学会が関わることは、多くの会員が当事者であり、会員の協力や意見が求められる。今は理事、評議員が中心的に学会運営に関与しているが、若手や女性等からの提案も取り込みたい。今後も学会活動を展開して、各会員のNMR研究や利用などを促進してNMRの発展に貢献できればと考えている。

受領日：2023年7月8日

巻頭エッセイ

ストレスを生む２種類の勘違い、他２題

群馬大学名誉教授
若松 馨
kwakamats@gunma-u.ac.jp

2023年3月をもって群馬大学を退職しました。NMRを主な手法とし、色々な研究をすることができました。良い共同研究者（先生・スタッフ・学生を含む、特に細田和男博士）と良い環境に恵まれたお陰です。この場を借りて御礼申し上げます。また、多くの方々に大変ご迷惑をおかけしました。申し訳ございませんでした。

A.「2 種類の一見相反する勘違い」がストレスを生む

このことに、退職の2ヶ月前に気付いたので、参考までにシェアさせて下さい。

1. 自分の能力の過大評価

「短時間にできると思ったのに、なかなか進まない」「もっとできるハズなのに何故?」などのイライラを感じたことがある方はいらっしゃると思います。

その「予想と現実との乖離」の原因は、「必要な準備（材料）の不足に尽きる」ということに作業中に気が付く――ことが多かったです（この巻頭エッセイもその例）。「やること一杯あったじゃん。これじゃ、簡単に終わる訳ないじゃん。」と。必要な物を見極めながら地道に進み始めれば、イライラを感じる暇はなくなります（すぐに終わる訳ではありません）。

2. 自分の対応能力の過小評価

「失敗したらどうしよう？」「起きた問題に自分は対応できず、フリーズするかもしれない。」という心配もストレスになります。

しかし、実際は「大丈夫」!!

予想外・期待外の事象に遭遇しても「対応できた」というのが私の経験です（自分に対応できないことは起こらない――ようになっているらしい）。予想・期待が元々、間違っていることは多く、新たな展開に喜ぶこともありました（恥ずかしい勘違いも沢山ありましたが）。自分の対応能力は予想以上にあったな～と思い返すこともあります。一旦始めたことで発生するモーメントのお陰で続けられるのかもしれません。

自分の対応能力を引き出すつもりで、対応案を複数書き出し、一つずつ淡々と試していく。「自分が本当にやりたいこと」でなければ、「中止を意思決定する」のも立派な対応だと思います（フリーズするよりも遙かにマシ）。また、他人にヘルプを頼むのも良いし、相談するだけでも気が楽になり、進みやすくなるでしょう。繰り返しますが、これらのことに気付いたのは退職直前です。もっと早く気付いていたらと思います。

なお、遭遇した事象に怒ったり、他人に当たり散らすのは「自分は対応能力がない人ですよ～」と公言しているのと同じだと、私は感じるようになりました（勿論、自戒を込めて）。

B.「ペナルティーを最小化する」という考え方

第59回NMR討論会（2020年11月18～20日、高崎市）の準備には大きなプレッシャーを感じました。新型コロナ禍真っ盛りで、他の学会は軒並みオンラインに移行していました。でも、対面で議論する場を提供したかったので、「公的な中止指令が発令されない限りは対面で実施しよう」と準備を進めました。結局、この期間とその前後のみ感染者が減少してくれ、開催できただけでなく、予想以上に多くの方々に参加していただけました。また、「久々の対面学会が楽しかった～」という嬉しいお言葉も頂戴しました。

心の拠り所になったのは「Energy（Penalty）Minimizationの考え方」でした。生体分子というsimpleな系ですらNOE、ファンデルワールス力、二面角などのviolationがゼロになる構造を計算するのはstraightforwardではありません。「新型コロナ禍での対応」というある意味政治的な分野において全員が納得する「解」（Penalty ＝ 0）は多分存在しないでしょう。発症や心配というデメリット（Penalty）を最小化しつつ、対面開催のメリットを最大化する方針で準備しました。自分の場

受領日：2023年6月21日

合、NMRをやっていなかったら、こういう考え方はできなかっただろうと思います。

この方針に切替えてからはプレッシャーは感じなくなりました。方針を説明できれば十分で、クレームが付くのは織り込みずみ――と腹を括りました。当然ながら「できる感染対策」は全て取ったつもりです。ただ、主催社側が掛けられる手間には限界があるので、参加者が座る椅子は参加者に運んでいただき、誰の椅子かは各自に記入していただきました。

なお、開催方法の詳細については理事会の方々に議論していただき助かりました。群馬大学のスタッフだけでは気付かない点を指摘していただきました。改めて御礼申し上げます。

C. 自分の興味を信じる

小学3年生の家庭科の授業で「血の付いたハンカチをお湯で洗ってはいけません。なぜでしょう？」と質問されましたが、わかりませんでした。血液にタンパク質が入っていること、タンパク質が熱で固まることは知っていましたが、それらを関連付けられなかった訳です。その時「理科ってスゲ～」と感動し、理科が好きになりました。

月日は過ぎ、卒業研究配属になりました。宮澤辰雄先生による研究室紹介に何となく参加したところ、「ペプチドホルモンが受容体に結合した時の立体構造を東島君が決定（しようと？したいと？）...」という空耳が聞こえました。配属前に宮澤先生によるNMRの講義は何故かマジメに勉強していて『パルスおよびフーリェ変換NMR』（ファラー・ベッカー著、赤坂一之・井元敏明共訳）まで買って眺めていました。でも、研究室に入ることは想像していませんでした。GPCRのサンプルが手に入る時代ではなかったので、東島先生のご指導の元、全重水素化リン脂質を化学合成し、二重膜に結合したマストパランXというペプチドの構造をTransferred NOE（TRNOE）の方法で決定しました。

マストパランXはGタンパク質を直接活性化することを東島先生が示されたので、製薬会社に就職後、GPCRよりも組織含量が圧倒的に高いGoタンパク質を牛脳から精製しました。学生の時にSDS-PAGEの経験すらなったのに、一回で精製したので（α、β、γの3バンドのみ）、タンパク質の専門家であった同期は驚いていました。

群馬大学ではGPCRの部分ペプチドがGタンパク質αサブユニットを活性化することを見つけました。そこで、αサブユニットに結合した部分ペプチドの立体構造を決定しようとしましたが、これら2つを混ぜた瞬間に凝集沈殿するという問題にぶつかりました。Non-detergent sulfobetaine（NDSB）という低分子化合物がタンパク質の変性や凝集を防止するという話を宮澤研後輩の河野俊之博士に教えて貰ったので、重水素化物が簡単に合成できるcholine-*O*-sulfate（COS）を合成したところ、NDSBよりも強く凝集を防止してくれました（NDSBの重水素化は困難）。その後、新規NDSBをいろいろ合成し、凝集防止活性・変性防止活性を調べましたが、相関が弱いように見え、かなり悩みました。結局、変性防止活性と凝集防止活性は全く別物であること、凝集防止活性にも2種類あること、などがわかり、「こういう場合にはこのNDSBが良さそう」という感覚を掴むことができました。総アミノ酸残基数が600を越えるタンパク質複合体を500 MHzの装置で解析するのは不可能だと皆さん思われるでしょうが、適切なNDSBを添加し、熱変性を防止すると、複合体形成でシフトする^{1}H-^{15}N HSQCシグナルを数多く観測できました（^{15}Nユニフォームラベルのみ。^{2}Hラベルはなし）。

小学生の時に抱いた「タンパク質の熱凝集」への興味を失わずに良かった――と思っています。

「NMRってこんなこともできるんだ」と毎年驚かされます。日本核磁気共鳴学会の益々のご発展を祈念いたします。

若松 馨（わかまつ・かおり）
1981年 3月　東京大学理学部生物化学科卒業
1986年 3月　東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻博士課程修了（理学博士）
1986年 4月　武田薬品工業 研究所員
1990年 4月　群馬大学工学部生物化学工学科 講師
1992年 4月　群馬大学工学部生物化学工学科 助教授
2001年　日本核磁気共鳴学会会員
2002年 5月　群馬大学工学部生物化学工学科 教授
2023年 3月　退職

総説論文：解説

GPCRの活性と直結する動的構造平衡の解明

東京大学大学院薬学系研究科生命物理化学教室
上田 卓見
ueda@nmrlab.f.u-tokyo.ac.jp

1. 序

生体内においてタンパク質は、その構造をたえず変化させることで機能している。例えばイオンチャネルは、膜貫通領域のポアが開いた状態と閉じた状態を交換することで、適切なタイミングで適量のイオンを透過する。トランスポーターは膜外を向いた構造と膜内を向いた構造を交互に取ることで、膜間輸送を達成している。またハブタンパク質とよばれるタンパク質は、結合部位が多様な構造を取ることで、複数のエフェクター分子と相互作用する。

NMRでは、生理的条件に対応する溶液条件下における、タンパク質の構造に関するオングストローム単位の情報が得られる。さらに、複数の立体構造の動的平衡状態にあるタンパク質における、交換速度や量比といった定量的な時空間情報を取得できる。このようなNMRにより得られる情報は、独自性が高く、また活性と直結する。我々はNMRを用いて、Gタンパク質共役型受容体（GPCR）等の重要な生理機能を担うタンパク質における、活性と直結する動的構造平衡を解明してきた[1]。

GPCRは様々な神経伝達物質やホルモン、脂質メディエーター等の受容体として機能しており、現在市販されている医薬品の30%以上はGPCRを標的とする。GPCRは生理的リガンドや作動薬の結合により活性化すると、細胞内のGタンパク質を活性化して、細胞内のcAMPやカルシウムイオン等の濃度変化を引き起こして、シグナルを誘起する。また、活性化したGPCRはGPCRキナーゼにより細胞内がリン酸化された上で、アレスチンを活性化して、内在化やMAPキナーゼの活性化等のGタンパク質とは異なるシグナルを誘起する。

GPCRをNMR解析する上では、分子量が大きいこと、収量および安定性が低いこと、また活性体の発現に用いる昆虫細胞発現系において利用可能な安定同位体標識法が限られることから、取得できる情報の量が限られることがボトルネックとなる。本稿では、このようなボトルネックを解消する方法を新規に開発するとともに、開発した手法を応用して、GPCR等の活性に直結する動的構造平衡を解明してきた、我々の研究を紹介する。

2. GPCRのNMR解析を可能とする手法の開発

前章で述べたような性質を持つGPCRのNMR解析では、多次元NMRスペクトルを高感度で迅速に測定することが必要である。一方、多次元NMR測定では、インターフェログラムを得るために、展開時間を変えながら測定を多数回繰り返す必要がある。また、展開時間が大きいデータでは、横緩和によりシグナルが減弱するため、S/Nが低い。そこで我々は、多次元NMRの測定時間の短縮や感度の向上を可能とする、Co-ANAFOR法を開発した[2]（**図1**）。Co-ANAFOR法では、高感度で検出できるインターフェログラムの前半部分を実測した上で、HSQC等の試料の性状解析のために日常的に測定されている、目的の情報は得られないが感度は高い実験から取得した化学シフトを利用して、インターフェログラムの後半を再構成する（**図1A**）。Co-ANAFORと、Linear predictionやANAFOR、HMS-IST等の従来の再構成法を比較した結果、Co-ANAFORではANAFORやLinear predictionと比べてアーティファクトが顕著に減少しており（**図1B**）、またシグナル強度比がHMS-IST法よりも正確であることが示された（**図1C**）。さらに、Co-ANAFORを応用することで、GPCRであるケモカイン受容体CCR1およびCCR5とケモカインMIP-1αの結合様式を、アミド基検出型の転移交差飽和法で解明することが可能となった[3]。

また、複雑な構造平衡を規定する多数の速度定数をNMRシグナルから決定する上では、必要な計算量が速度定数の数に対して累乗で増大して、実現不可能な程度となってしまう点が問題とな

受領日：2023年3月3日　受理日：2023年7月10日　編集委員：児嶋長次郎

る。そこで我々は、機械学習の分野で利用されている交換モンテカルロ法を利用して、多数の速度定数を網羅的かつ効率的に探索して、NMRスペクトルを再現する複雑な構造平衡モデルを推定する方法を独自に開発した[4](**図2**)。さらに、開発した方法を応用することで、β_2アドレナリン受容体の構造平衡を解明することが可能となった[4]。

3. GPCR に特徴的なシグナル制御機構の解明

GPCRを介する細胞内シグナルの特徴として、シグナルバイアスが挙げられる。モルヒネ系鎮痛薬の標的分子であるGPCRのμオピオイド受容体(μOR)は、モルヒネ等のリガンドにより活性化すると、Gタンパク質シグナルを活性化して、鎮痛作用を誘起する。一方、μORによるアレスチンシグナルの活性化が、副作用を誘起すると考えられている。近年上市された鎮痛剤のオリセリジンは、μORに作用して、Gタンパク質をより強く活性化することが知られている。このような薬物はバイアスリガンドと呼ばれ、望ましい薬効を持つ薬物を開発する上で重要だと考えられている。

多くのGPCRについて、逆作動薬が結合した不活性型の構造と、完全作動薬とGタンパク質が結合した活性型の構造が解かれている。しかし、アレスチン結合状態とGタンパク質結合状態のGPCRの立体構造に明確な違いは見出されておらず、シグナルバイアスの機構も不明である。また最近、オリセリジンを含む複数の作動薬につい

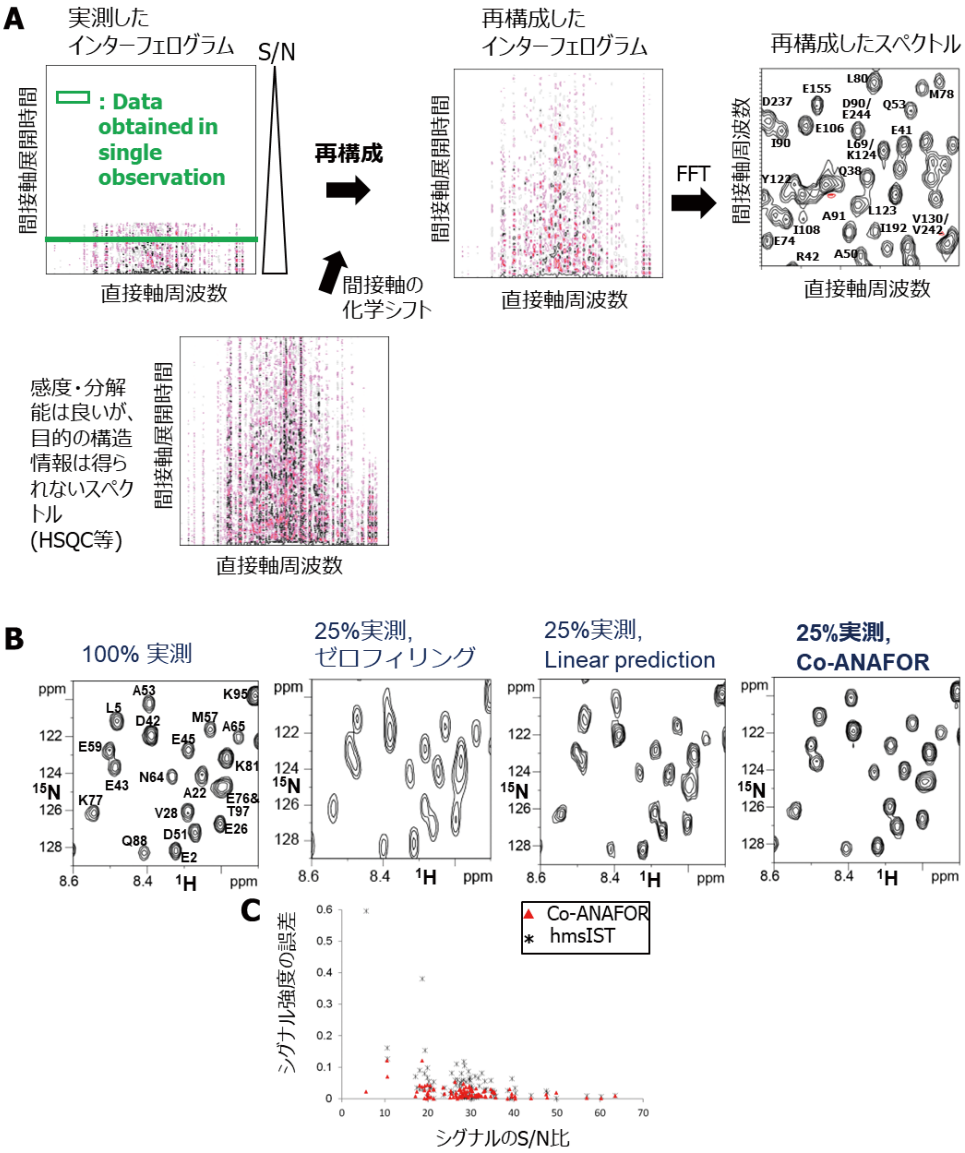


図1　Co-ANAFOR法による多次元NMRスペクトルの再構成。A. Co-ANAFORの模式図。B. 様々な手法で再構成した、プラストシアニンと光化学系Iの転移交差飽和実験のスペクトル。C. プラストシアニンと光化学系Iの転移交差飽和実験における、各シグナルのS/N比に対する、実測データの一部からCo-ANAFORもしくはhmsISTを用いて再構成したスペクトルにおけるシグナル強度比のプロット。

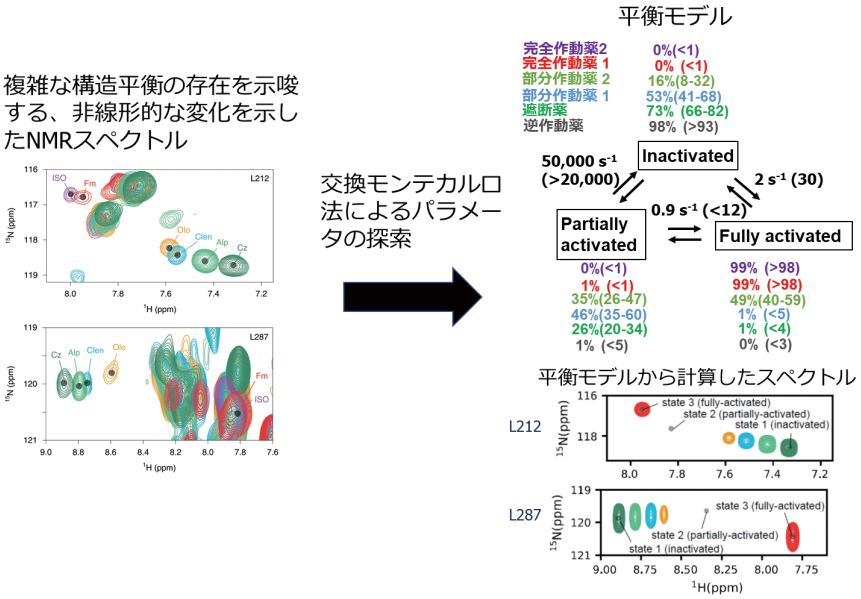


図2　交換モンテカルロ法を利用した、NMRシグナルの線形を再現する複雑な構造平衡モデルの推定。

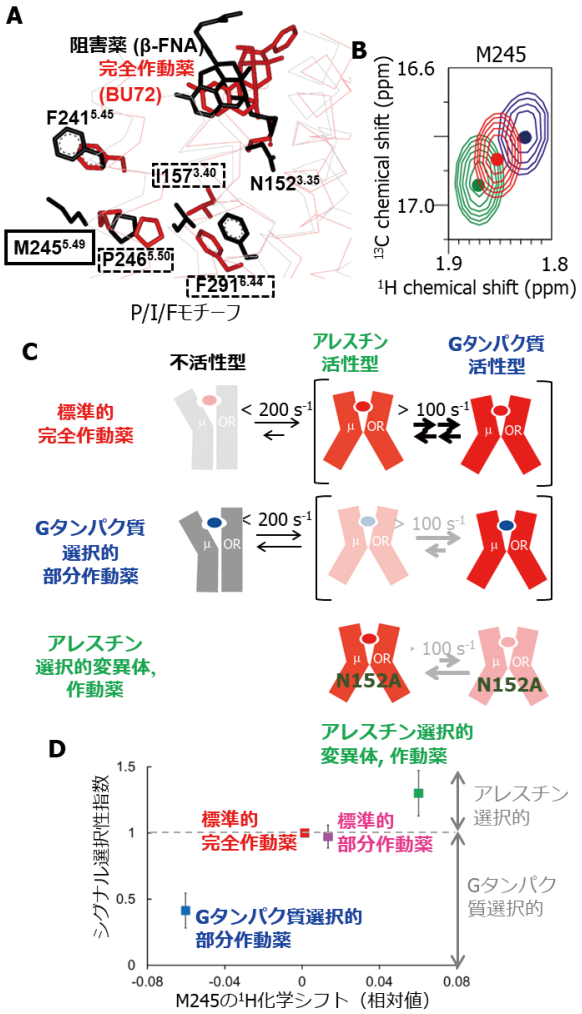


図3　μORの薬効度とシグナルバイアスを規定する動的構造平衡。A. μORのM245の位置。B. 標準的完全作動薬結合状態（赤）、Gタンパク質選択的部分作動薬結合状態（青）、およびアレスチン選択的変異体の完全作動薬結合状態（緑）における、M245のNMRシグナル。C. μORのシグナル伝達活性を規定する構造平衡の模式図。D. 各状態における、M245の^{1}H化学シフトとシグナルバイアス指数のプロット。

て、μORおよびGタンパク質との三者複合体の極低温電子顕微鏡構造が解かれたが、いずれのリガンドが結合した構造においても、μORとGタンパク質の結合様式はほぼ同一である[5]。そこで我々は、バイアスの程度が様々に異なる状態における、μORの動的な構造をNMRで解析した[6]。μORの膜貫通領域に位置するM245等のシグナルを、バイアスの程度が異なる各状態において観測した結果、バイアスの状態に応じて化学シフトが連続的に変化することが見出された（図3A、B）。これらの結果から、μORが不活性型と複数の活性型の平衡状態にあり、Gタンパク質、アレスチンの一方をより強く活性化する状態では、複数の活性型の平衡が一方に偏っていることが示唆された（図3C）。この構造平衡における複数の活性型の割合とシグナルバイアスの測定値は良く対応したことから（図3D）、μORの構造平衡がシグナルバイアスを決定していることが示された。

4. 脂質によるGPCRの活性制御機構の解明

細胞内では、GPCRは脂質二重膜中で機能する。アデノシンA_{2A}受容体（A_{2A}AR）は、アデノシンにより活性化する、炎症反応等を制御するGPCRであり、ドコサヘキサエン酸（DHA）およびアラキドン酸（ARA）に由来するアシル鎖を含む脂質二重膜環境で機能する。生体膜中における、DHA鎖とARA鎖の割合は、食事や加齢、神経変性疾患等により変動することが知られている。したがって、脂質がA_{2A}ARの活性にどのように影響するか、また、その制御機構がアデノシン

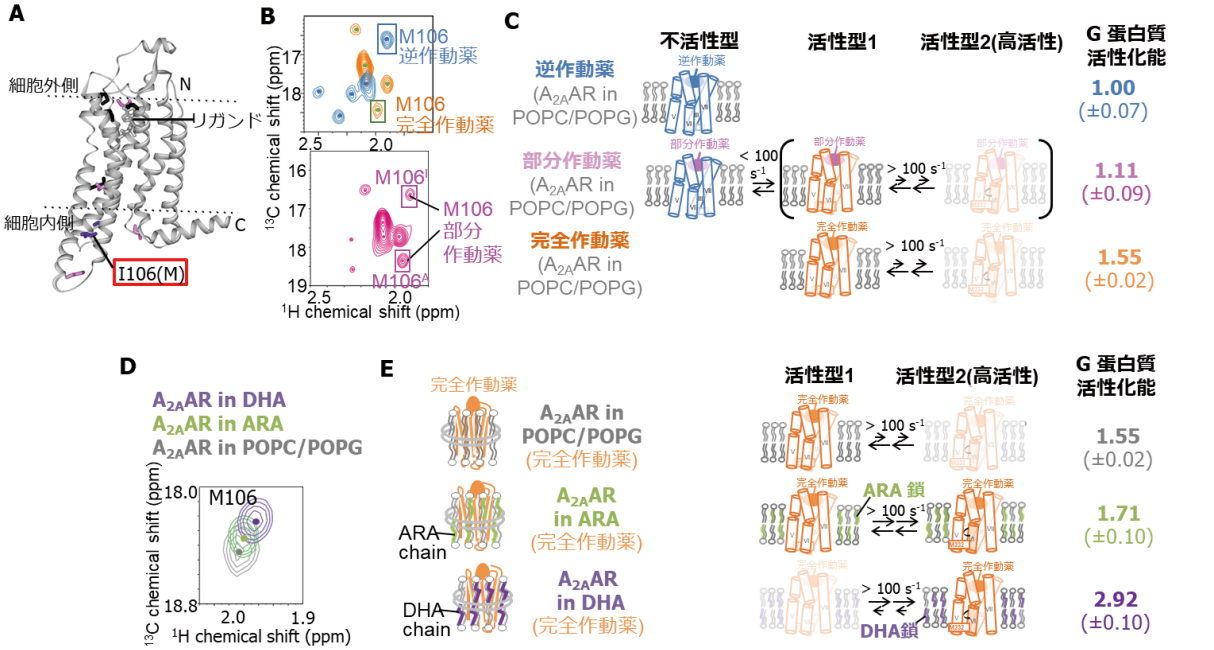


図4　脂質二重膜中のA_{2A}ARにおける、活性を規定する構造平衡。A-C. リガンドがA_{2A}ARのシグナル伝達活性および動的構造平衡に与える影響。A. メチオニン残基を変異導入した106番目の残基の位置。B. 逆作動薬・部分作動薬・完全作動薬結合状態におけるM106のNMRシグナル。C. 各状態の構造平衡の模式図とGタンパク質活性化速度の相対値。D-F. 脂質がA_{2A}ARのシグナル伝達活性および動的構造平衡に与える影響。 D. 脂質組成が異なるrHDLに再構成したA_{2A}ARにおける、M106のNMRシグナルの重ね合わせ。E. 各脂質組成における構造平衡の模式図と、Gタンパク質活性化速度の相対値。

等のリガンドとどのように異なるか、ということが、生理的環境におけるA_{2A}ARの機能を理解する上で重要である。

脂質二重膜中の膜タンパク質のNMR解析を行うためには、再構成高密度リポタンパク質（rHDL、別名ナノディスク）が有効である。rHDLは両親媒性ヘリックス構造を取るタンパク質が脂質二重膜構造を取り囲んだ、直径約10 nmのディスク状の粒子であり、脂質組成を制御しつつ、中に膜タンパク質を埋め込むことが可能である。そこで我々は、rHDL中のアデノシンA_{2A}受容体の活性が脂質で制御される機構を解析した[7]。

まず、A_{2A}ARをDHA鎖やARA鎖を含むrHDL、およびどちらも含まないrHDLに再構成して、Gタンパク質活性化能を調べた。その結果、DHA鎖がA_{2A}ARのGタンパク質活性化速度を正に制御することが判明した。次に、薬物の影響を調べるために、逆作動薬、完全作動薬、部分作動薬がそれぞれ結合した、rHDL中のA_{2A}ARについて、内在性ならびに膜貫通領域に導入したM106等のメチオニン残基のNMRシグナルを観測した（**図4A、B**）。その結果、部分作動薬存在下では、逆作動薬存在下で観測された不活性型に対応するシグナルと、完全作動薬存在下で観測された活性型に対応するシグナルが両方観測されたことから（**図4B**）、A_{2A}ARが不活性型と複数の活性型構造の平衡状態にあり、作動薬は不活性型と活性型の平衡を後者に偏らせることが判明した（**図4C**）。

次に、脂質の影響を調べるために、各種脂質組成のrHDLに再構成したA_{2A}ARについて、部分作動薬存在下のNMRシグナルを観測した。その結果、不活性型と活性型のシグナルの割合は脂質組成に影響されなかった一方、活性型のNMRシグナルの化学シフトが各脂質組成におけるGTP活性化速度と対応して連続的に変化した（**図4D**）。これらの結果から、DHA鎖は、作動薬と異なり、複数の活性型の平衡をGタンパク質の活性化により有利な構造に偏らせることが示された（**図4E**）。複数の活性型の量比はGタンパク質活性化能と良く対応していたことから、この構造平衡の変化がA_{2A}ARのシグナル伝達活性を決定していることが明らかになった。

5. GPCR以外の膜タンパク質・高分子量タンパク質の機能解明

我々は、GPCR以外の膜タンパク質や高分子量タンパク質についても、活性を規定する構造平衡をNMRを用いて解明してきた。以下ではその中から、$P2X_4$受容体の部分活性化機構[8]と、CheA-CheY複合体の温度依存的なシグナル伝達

制御機構[9]を解明した研究を紹介する。

$P2X_4$受容体は、細胞外のATPにより開口して、各種陽イオンを透過する、リガンド依存型イオンチャネルである。慢性の神経障害性疼痛や炎症性疼痛などを制御しており、鎮痛薬の標的分子と考えられている。α,β-メチレンATPは、$P2X_4$受容体をATPより弱く、部分的に活性化することが知られている。このような$P2X_4$受容体を部分的に活性化する薬は、副作用の少ない治療薬となることが期待される。

$P2X_4$受容体のATP存在下の結晶構造では、ATPは細胞外領域に結合していて、アポ状態の結晶構造と比べると膜貫通領域に近い領域が約10Å拡大しており、膜貫通領域がポアを形成している。しかし、静的な閉状態と開状態立体構造だけでは、$P2X_4$受容体の部分的活性化を理解することは難しい。

我々は、rHDL中の$P2X_4$受容体の細胞外領域に位置する内在性のメチオニン残基、膜貫通領域に位置するL339およびL351に導入したメチオニン残基、および細胞外領域と膜貫通領域を繋ぐ位置に存在するA330等のNMRシグナルを、アポ状態、ATP結合状態、および α,β-メチレンATP結合状態の各状態で観測した（**図5A、B**）。その結果、α,β-メチレンATP結合状態において、膜貫通領域およびリガンド結合部位と膜貫通領域を繋ぐ領域が、アポ状態に対応する閉構造とATP結合状態に対応する開構造の間を100/s以下のタイムスケールで交換していることが明らかとなった（**図5C**）。

NMRスペクトルから示唆される、α,β-メチレンATP結合状態の$P2X_4$受容体が開構造を取る割合は、$P2X_4$受容体の電気生理実験における、α,β-メチレンATPが誘起する電流の相対値（**図5D**）と良く対応した。したがって、α,β-メチレンATP結合状態では、開構造をとる$P2X_4$受容体が少量存在することにより、部分的に活性化され

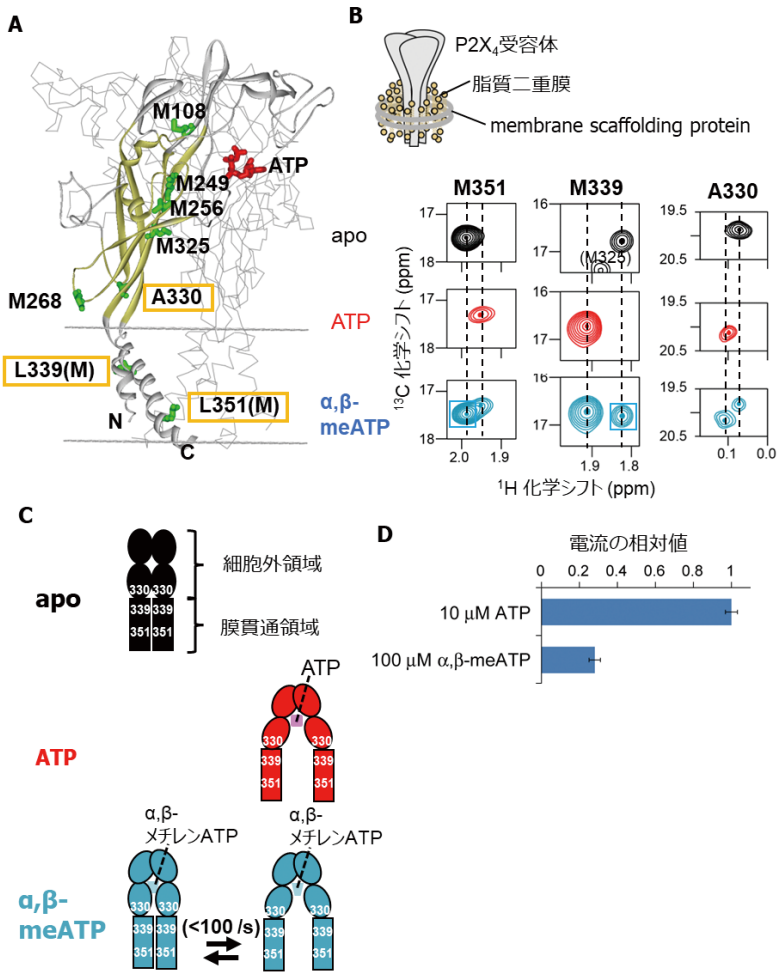


図5　$P2X_4$受容体のイオン透過性を規定する構造平衡。A. $P2X_4$受容体上のNMRシグナルを観測した残基の分布（PDB entry: 4DW1）。B. アポ状態、ATP結合状態、α,β-メチレンATP結合状態における、rHDL中の$P2X_4$受容体のA330、M339、M351に由来するNMRシグナル。C. NMRにより解明した、各状態における$P2X_4$受容体の構造平衡。 D. $P2X_4$受容体を発現した細胞に対してATPおよびα,β-メチレンATPが作用した時に誘起される電流の大きさの相対値。

ることが示された。

生物にとって、温度を検知して適切に応答することは必須の機能である。原核生物は、温度が最適な場所に向かって動く、走温性を備えている。この走温性は、CheYタンパク質のリン酸化により制御されており、リン酸化CheYの濃度が低くなる方に向かうことで走温性が達成されることが知られている（図6A）。CheYのリン酸化は、P1～P5の5つのドメインから構成されるマルチドメインタンパク質であるCheAにより制御される（図6B）。CheAのP1ドメインにあるヒスチジン残基は、ATPと結合するP4ドメインにより自己リン酸化された上で、リン酸をP2ドメインに結合するCheYのアスパラギン酸残基に受け渡す（図6B）。走温性のメカニズムを解明する上では、CheA-CheY複合体の動的な構造が温度でどのように変化するかを明らかにすることが重要である。そこで我々は、283 Kと303 Kの二つの温度で、CheA-

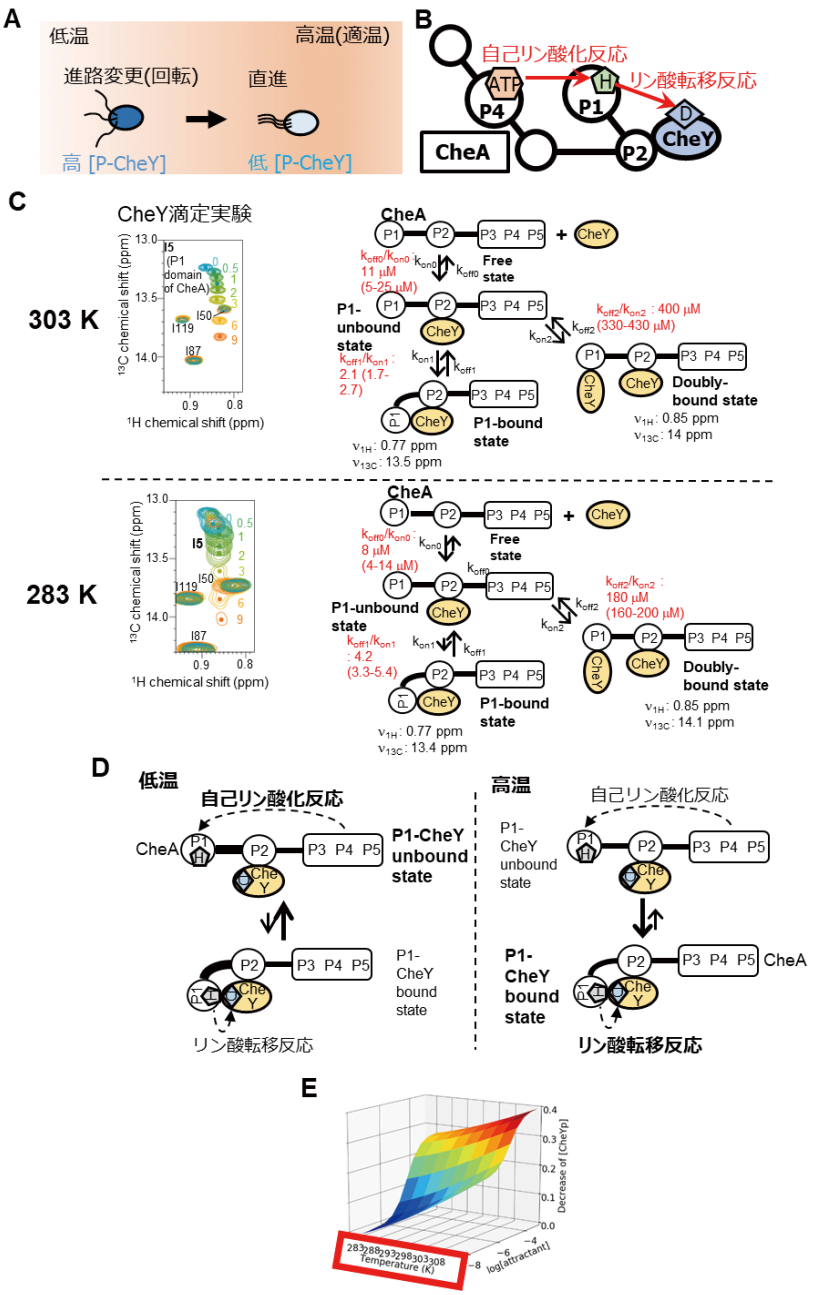


図6　CheA-CheY複合体の温度依存的なシグナル制御を規定する動的ドメイン間相互作用。A. 低温時における走温性の模式図。B. CheA-CheY複合体のドメイン構成。C. 303 Kおよび283 Kにおける、様々な濃度のCheYを添加した時の、CheAのIle-5のNMRシグナルの重ね合わせ（左）と、算出されたCheA-CheY相互作用の平衡定数の最適値および誤差（右）。D. 生理的な濃度における、CheA-CheY複合体の平衡の模式図。E. シグナル伝達の数理モデルにCheA-CheY複合体の平衡を追加して算出した、温度および誘引物質濃度の上昇に伴うリン酸化CheYの濃度変化。

CheY相互作用のNMR解析を行った。その結果、CheAのP1ドメインに位置するIle-5等のNMRシグナルが、CheY添加に伴い非線形的に変化すること、およびその様式が283 Kと303 Kでは異なること等が観測され、これらの結果から両温度においてCheA-CheY複合体が**図6C**に示したような動的ドメイン間相互作用を形成することが示された。この動的ドメイン相互作用と、生理的環境におけるCheAとCheYの濃度を考慮すると、生体内のCheAは、P2ドメインのみでCheYと結合した、自己リン酸化反応が進行できるP1-CheY unbound stateと、P1、P2の両ドメインでCheYと結合した、リン酸転移反応が進行できるP1-CheY bound stateの平衡状態にあり、高温条件下では後者の割合が増大すると考えられる（**図6D**）。

そこでこのようなCheA-CheY複合体の平衡が走温性シグナル制御に与える影響を見積もるために、走温性シグナルの数理モデルにCheA-CheY複合体の平衡を組み込んで、温度変化に伴うリン酸化CheY濃度の変化をシミュレーションした。その結果、CheA-CheY複合体の平衡の変化に伴いリン酸化CheYの濃度が十分変化した（**図6E**）。したがって、CheA-CheY複合体が、走温性の温度センサーとして機能しうることが示された。

6. 展　望

以上のように、NMRを利用することで、生理的環境に対応する条件におけるGPCR等の動的構造平衡が、シグナル伝達活性と直結することが明らかとなった。さらに、このような構造平衡の量比や交換速度の情報は、細胞内シグナル伝達の数理モデルと組み合わせることが可能である。例えば我々は、NMRにより同定した β_2ARの作動薬結合に伴う不活性型と活性型の量比および交換速度の変化と、Gタンパク質の活性化からアデニル酸シクラーゼによるcAMP産生に至る各反応の速度定数の文献値を組み合わせることで、cAMP濃度変化をシミュレーションして、cAMP濃度変化が秒単位の迅速なタイムスケールで生じることを定量的に説明している[10]（**図7**）。さらに交換モンテカルロ法を利用すれば、NMRの結果と細胞内シグナル伝達のリアルタイム観測の結果を全て説明するような、動的構造平衡を組み込んだ細胞内シグナル全体の非常に複雑な数理モデルを構築することも可能である。このように、NMRにより得られる動的構造平衡の情報は、それ自体で活性と直結することに加えて、その時空間的な性質により立体構造情報と生化学や細胞生物学の知見を統合する能力を持つ。

今後、NMRにより、様々な生理的に重要な機能を担うタンパク質における活性を規定する動的構造平衡が解明されるとともに、その情報と機械学習や情報科学を利用して、精緻な立体構造情報と細胞生物学的な知見を統合した生理現象全体の

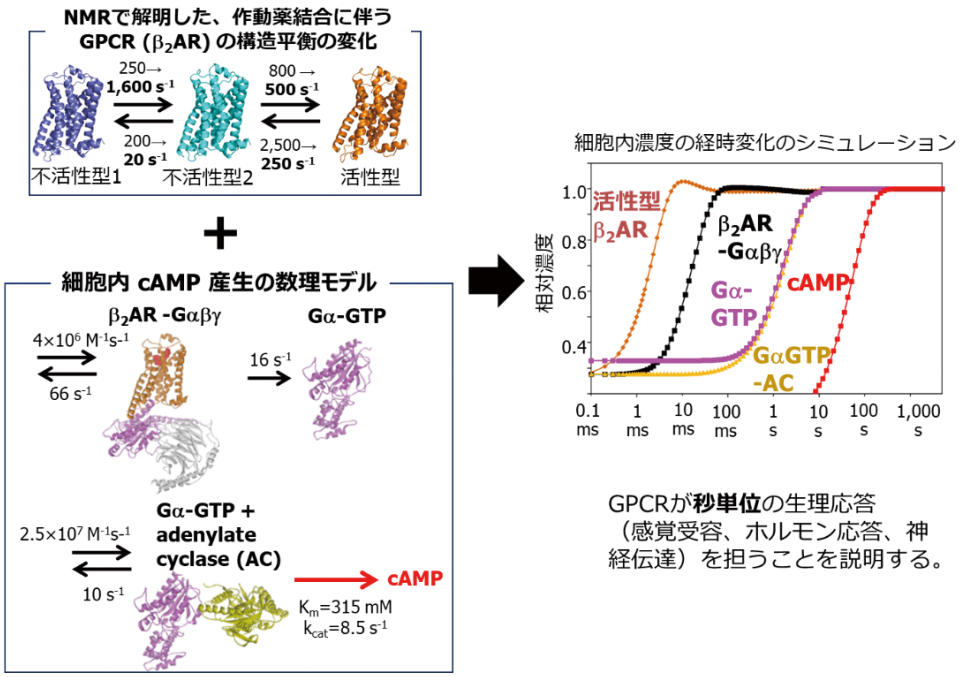


図7　β_2ARの構造平衡の交換速度と、Gタンパク質活性化およびcAMP産生の速度の組み合わせによる、細胞内シグナル活性化のシミュレーション。

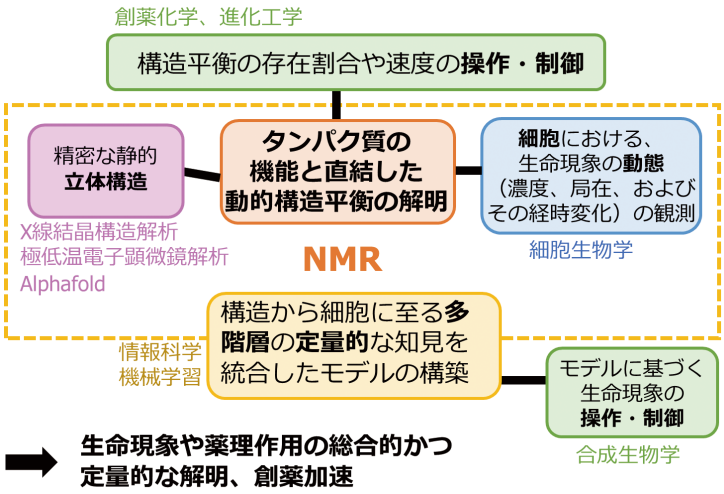


図8　NMRを中心とした研究展望の模式図。

数理モデルが構築されること、さらに変異導入や化合物により動的構造平衡を制御する研究や、得られた数理モデルに基づいて細胞の機能を制御する研究が進展して、生命現象の理解や薬物の開発が大きく加速することが期待される（**図8**）。

引用文献

[1] Shimada, I., Ueda, T., Kofuku, Y., Eddy, MT., Wüthrich, K. GPCR drug discovery: integrating solution NMR data with crystal and cryo-EM structures. *Nat. Rev. Drug Discov.* **18**, 59-82 (2019).

[2] Ueda, T., Yoshiura, C., Matsumoto, M., Kofuku, Y., Okude, J., Kondo, K., Shiraishi, Y., Takeuchi, K., & Shimada I. Development of a method for reconstruction of crowded NMR spectra from undersampled time-domain data. *J. Biomol. NMR* **62**, 31-41 (2005).

[3] Yoshiura, C., Ueda, T., Kofuku, Y., Matsumoto, M., Okude, J., Kondo, K., Shiraishi, Y., Takeuchi, K., Shimada, I., "Elucidation of the CCR1- and CCR5-binding modes of MIP-1a by application of an NMR spectra reconstruction method to the transferred cross-saturation experiments", *J. Biomol. NMR* **63**, 333-340 (2015).

[4] Imai, S., Yokomizo, T., Kofuku, Y, Shiraishi, Y, Ueda, T, *Shimada, I. Structural equilibrium underlying ligand-dependent activation of β_2-adrenoreceptor. *Nat. Chem. Biol.* **16**, 430-439 (2020).

[5] Zhuang, Y., Wang, Y., He, B., He, X., Zhou, XE., Guo, S., Rao, Q., Yang, J., Liu, J., Zhou, Q., Wang, X., Liu, M., Liu, W., Jiang, X., Yang, D., Jiang, H., Shen, J., Melcher, K., Chen, H., Jiang, Y., Cheng, X., Wang, MW., Xie, X., Xu, HE., Molecular recognition of morphine and fentanyl by the human μ-opioid receptor. *Cell* **185**, 4361-4375 (2022).

[6] Okude, J., Ueda, T., Kofuku, Y., Sato, M., Nobuyama, N., Kondo, K., Shiraishi, Y., Mizumura, T., Onishi, K., Natsume, M., Maeda, M., Tsujishita, T., Kuranaga, T., Inoue, M., *Shimada, I., "Conformational equilibrium of m-opioid receptor determines its efficacies and functional selectivities", *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 13376-13379 (2015).

[7] Mizumura, T., Kondo, K., Kofuku, Y., Natsume, M., Imai, S., Ueda, T., *Shimada, I., "Activation of adenosine A_{2A} receptor by lipids from docosahexaenoic acid revealed by NMR" *Sci. Adv.* **6**, eaay 8544 (2020).

[8] Minato, Y., Suzuki, S., Hara, T., Kofuku, Y., Kasuya, G., Fujiwara, Y., Igarashi, S., Suzuki, E., Nureki, O., Hattori, M., Ueda, T., *Shimada, I., "Conductance of $P2X_4$ purinergic receptor is determined by conformational equilibrium in the transmembrane region", *Proc. Natl. Acad. Sci.* **113**, 4741-4746 (2016).

[9] Minato, Y., Ueda, T., Machiyama, A., Iwai, H., *Shimada, I., "Dynamic domain arrangement of CheA-CheY complex regulates bacterial thermotaxis, as revealed by NMR", *Sci. Rep.* **7**, 16462 (2017).

[10] Kofuku, Y., Ueda, T., Okude, J., Shiraishi, Y., Kondo, K., Mizumura, T., Suzuki, S., Shimada, I., Functional dynamics of deuterated β_2-adrenergic receptor in lipid bilayers revealed by NMR spectroscopy. *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 13376-13379, (2014).

上田 卓見（うえだ・たくみ）

2000年 3月　東京大学 薬学部 卒業
2005年 3月　東京大学 大学院薬学系研究科博士後期課程 修了（薬学博士）
2005年 4月　社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム 特別研究職員
2006年 1月　東京大学 大学院薬学系研究科生命物理化学教室 助教
2013年10月　日本科学技術研究機構 さきがけ研究員（兼任、2017年3月まで）
2019年 5月　東京大学 大学院薬学系研究科生命物理化学教室 准教授

総説論文：解説

常磁性ランタノイドイオンを用いたタンパク質の構造解析

徳島大学先端酵素学研究所
齋尾 智英
saio@tokushima-u.ac.jp

はじめに

溶液中でのタンパク質の個々の原子核からの信号を観測するNMRは、生体分子、特にタンパク質の溶液中での立体構造やその変化、相互作用などを観測する上で最も強力な解析ツールの一つである。核オーバーハウザー効果（NOE）から得られる～5Å程度の原子核間距離情報に基づくことによって、タンパク質の立体構造を高分解能で決定することも可能である。さらに、重水素標識やメチル選択的安定同位体標識[1]、stereo-array isotope labeling（SAIL）[2]などの安定同位体標識技術やtransverse relaxation-optimized spectroscopy（TROSY）[3]、methyl-TROSY[4]などの測定技術の開発によって、数十kDaから数百kDaの高分子量タンパク質に対する構造解析も可能になっている。このようにNMR法は、種々の要素技術の開発の積み重ねによって高度化されてきた背景があると著者は認識している（**図1**）。

本稿では、生体高分子のNMR解析における重要な要素技術の一つとして、常磁性効果、特に常磁性ランタノイドイオンを用いた構造解析法について解説したい。常磁性ランタノイドイオンを用いた解析については、本会誌においても八木宏昌博士の基礎講座で原理も含めた記述がなされており[5]、詳しくはそれらを参考にしていただきたい。本稿では、常磁性効果の原理的な内容は割愛し、ランタノイドイオンの固定化のためのタグの開発や、常磁性効果を用いた構造解析例についていくつか紹介したい。

ランタノイドイオンから得られる常磁性効果

常磁性を持つ金属イオンとしては、ランタノイドイオンに加え、鉄イオンや銅イオン、ニッケルイオンなどが知られるが、なかでもランタノイドイオンは常磁性中心として多用されてきた。その理由の一つは、常磁性効果の多様性が挙げられる[5]。ランタノイド族を構成する15元素のうち、放射性を示すPm^{3+}を除く14種類がNMR解析によく用いられるが、そのなかで、La^{3+}とLu^{3+}は反磁性を示し、常磁性効果のないリファレンスとして用いられる。12種類の常磁性ランタノイドイオンは、それぞれに固有の常磁性の特性を持つ。Gd^{3+}を除く常磁性ランタノイドイオンによる常磁性効果は異方性を示し、pseudocontact shift（PCS）やresidual dipolar coupling（RDC）などを誘起する（**図2**）。Gd^{3+}の常磁性効果は等方性であり、paramagnetic relaxation enhancement（PRE）の観測や、ESR測定などに用いられる（**図2**）。異方性を示すもののなかでも、Tb^{3+}やDy^{3+}のように比較的強い常磁性効果を示すものから、

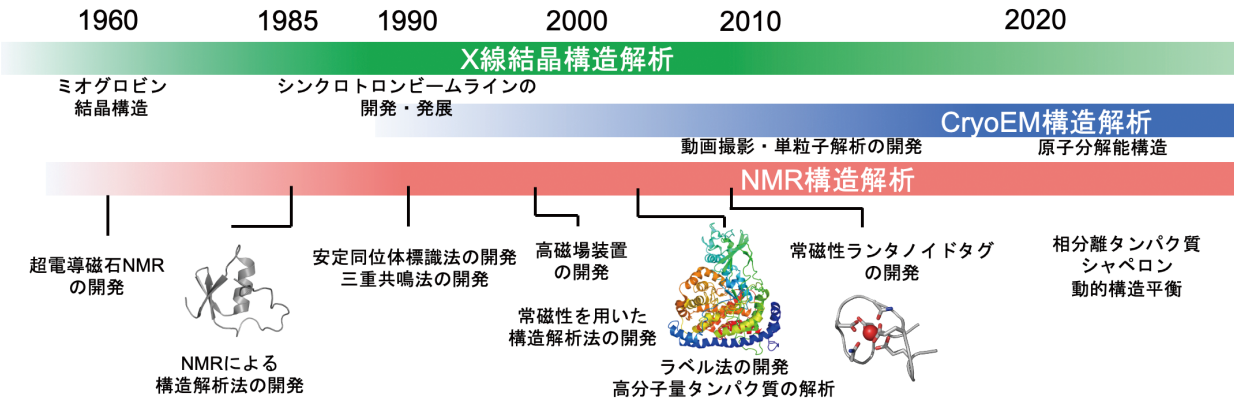


図1　構造解析技術の発展

受領日：2023年5月9日　受理日：2023年8月10日　編集委員：相沢智康

Ce^{3+}やEu^{3+}のように比較的弱い常磁性効果を示すものなど多様である。このような多様性は、ランタノイドイオンの内殻軌道である4f軌道の電子数の違いによるものであるが、一方で、最外殻電子数はランタノイド族で共通しているため、ランタノイドイオンは互いに似通った化学的性質を有するという特徴がある。この特性によって、異なるランタノイドイオンであっても、共通した配位環境によって固定することができ、多様な常磁性効果を容易に使い分けることができる。

距離に依存した信号の広幅化として観測される等方的常磁性効果PREの観察では、2, 2, 6, 6-tetramethylpiperidine 1-oxyl（TEMPO）などの有機ラジカルをラベルする方法もよく用いられるが、ランタノイドイオン、特にGd^{3+}を用いた場合には、常磁性中心から約30Åという、有機ラジカルの約20Åと比較してより広い範囲からPREを観測することが可能である[6]。一方で、有機ラジカルは、アスコルビン酸を用いた還元処理により反磁性リファレンスを取得できる点や、タグの市販品も入手しやすい点など、利便性の高さでのメリットは大きく、PRE情報の取得において多く用いられる。ランタノイドイオンを用いるメリットの多くは、PCSやRDC などの異方性常磁性効果の利用によってもたらされる。PCSは、ランタノイドイオンからの観測核までの距離と角度に依存した化学シフト変化として観測され、ランタノイドイオンから～40Åとういう広い範囲において観測される。PCSの定量解析からランタノイドイオンを中心とした座標系における観測核の位置（ランタノイドイオンからの距離・角度）の情報が取得される。このような長距離間の構造情報は、タンパク質の複合体形成や構造変化などの評価に有益な情報を与える。アミド結合などの結合ベクトルについて角度情報を与えるRDCは、配向媒体を用いることでも観測可能であるが、常磁性ランタノイドイオンを用いた場合には、ランタノイドイオンを固定した部分が配向の基準となるため、マルチドメインタンパク質やタンパク質複合体の運動性を評価する上でも有益である[7]。PCSやRDCは2次元NMRスペクトルから観測することができるため、比較的高感度かつ短時間のNMR測定から3次元立体構造情報が得られる点が最大の利点の一つである。このためPCSやRDCは、高分子量タンパク質[8]やタンパク質複合体の立体構造解析[9～11]のみならず、過渡的状態の構造解析[12]や細胞内でのタンパク質構造解析[13, 14]などにも用いられている。特にPCSは、スペクト上での変化量も大きいことから高精度での観測が可能であり、常磁性ランタノイドイオンを用いた測定においてよく用いられる。

タンパク質表面への常磁性金属の固定

上述のような常磁性効果を用いた解析を行うためには、常磁性ランタノイドイオンが対象タンパク質の特定の位置に固定される必要がある。タンパク質に対するランタノイドイオンの位置が定まらない場合、常磁性効果、特にPCSやRDCなどの異方性常磁性効果が平均化され減弱し、得られる情報精度が低下してしまう。そのため、構

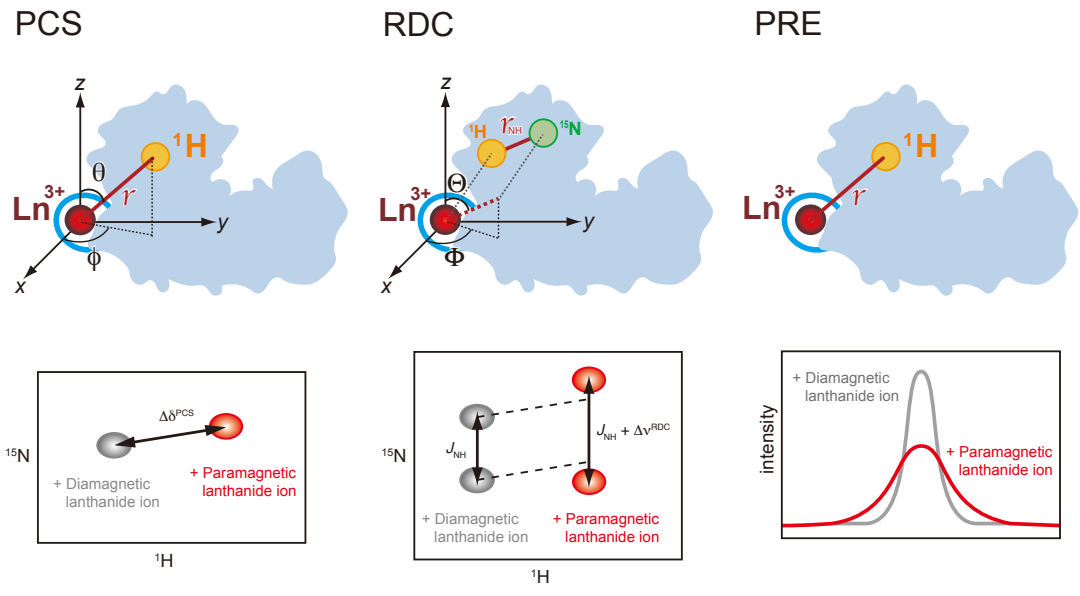
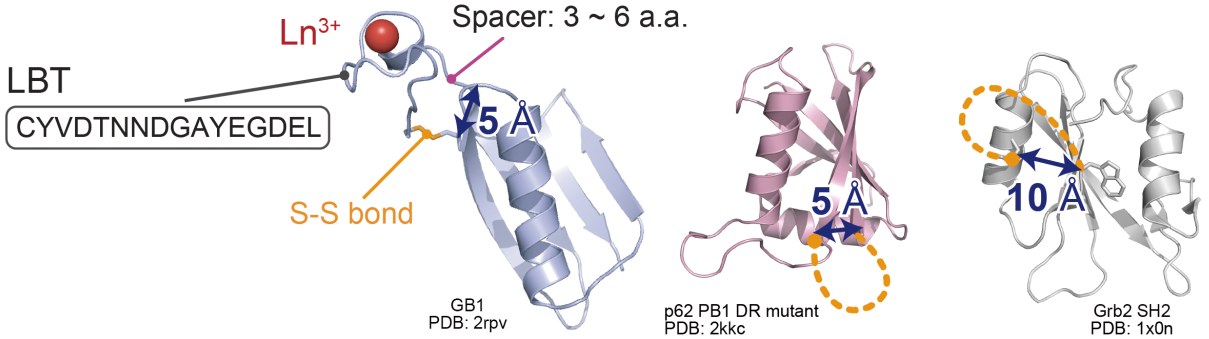


図2　ランタノイドイオンから引き起こされる代表的な常磁性効果

造解析に異方性常磁性効果を利用する場合には特に、ランタノイドイオンの固定が重要である。カルシウムやマグネシウムを結合するタンパク質に対しては、金属配位残基に変異を導入して常磁性ランタノイドイオンを固定することも可能であるが[11, 15]、金属イオンを結合しないタンパク質への適用は困難である。より多くの、金属イオンを結合しない一般的なタンパク質に対しても常磁性効果を用いた解析を適用できるようにするため、ランタノイドイオンを任意のタンパク質表面に固定するタグの開発が進められてきた[16, 17]。多くのランタノイド結合タグは、ペプチド性のものと、化学合成されたキレート剤に大別される。ペプチド性のタグは、カルシウム結合モチーフであるEFハンドモチーフの配列を元に、Tb^{3+}との結合に最適化（K_D 57 nM）された15アミノ酸程度の配列が基本となっている[18, 19]。このランタノイド結合ペプチドタグ（LBT）を用い、タンパク質末端へのクローニングによる融合[20, 21]、LBTとタンパク質表面に導入したCys残基間のジスルフィド結合[22]などが提案された。しかし、いずれの場合も、LBTはタンパク質に対して1箇所でのみ固定されているために、タンパク質に対するLBTの自由度が高いという課題が残されていた。そこで著者らは、LBTをタンパク質のN末端にクローニングによって融合し、さらにLBTのN末端に導入したCysとタンパク質表面に導入したCysの間をジスルフィド結合によって繋ぐことによって、LBTを2箇所で対象タンパク質に固定する手法を提案した[23]（**図3**）。

LBTを融合したタンパク質のN/C末端から5～10Åの範囲に位置するタンパク質表面残基をCysに変異させることにより、2点目の固定点を設計する。ペプチド配列を用いたこの手法は、タンパク質のNMRを専門とする研究者にとって入手しやすい材料を用いた簡便な方法でありながら、タンパク質に対するタグの運動性を低減させ、より強い異方性常磁性効果の観測を可能にした方法である。後述のように、著者らはこの2点固定LBTを用いて導入された常磁性ランタノイドイオンを用い、タンパク質複合体の立体構造解析[9, 10]やタンパク質－低分子リガンドの結合評価・構造解析[24]などを実証することで、解析に十分な情報が取得可能であることを示した。また、LBTとタンパク質の融合コンストラクトの設計においては、3～4残基のスペーサー配列を挿入するが、そのスペーサー配列の残基数を変えることでランタノイドイオンの位置が変わり、独立な常磁性データセットを取得することが可能である点も利点の一つである[10]。

2点固定LBTは、比較的簡便にランタノイドイオンを固定でき、なおかつ十分な異方性常磁性効果が得られるという利点がある一方で、用途によってはLBTとランタノイドイオンの親和性が不十分な場合も想定される。例えば、強い負電荷を持つタンパク質や、核酸が観測系に存在するような場合では、LBTから解離した遊離ランタノイドイオンが影響を及ぼす場合もある。タンパク質や核酸が高濃度で存在する細胞内での観察を目指す場合にも、同様の課題が想定され



Δχ-tensors (10^{-32} m^3)	Calbindin* metal-binding protein		LBT-GB1 Spacer: 3 residues		LBT-DR Spacer: 3 residues		LBT-Grb2 Spcaer: 4 residues	
	$\Delta\chi_{ax}$	$\Delta\chi_{rh}$	$\Delta\chi_{ax}$	$\Delta\chi_{rh}$	$\Delta\chi_{ax}$	$\Delta\chi_{rh}$	$\Delta\chi_{ax}$	$\Delta\chi_{rh}$
Tm^{3+}	-21.9 ±0.6	-20.1 ±1.0	-21.2 ±2.7	-15.0 ±1.1	-27.2 ±0.3	-18.9 ±1.0	-17.5 ±1.6	-17.1 ±0.5
Er^{3+}	-11.6 ±0.3	-8.6 ±0.7	-8.3 ±0.7	-6.6 ±0.2	-10.4 ±0.3	-9.1 ±0.2	-7.7 ±0.7	-7.3 ±0.2
Tb^{3+}	42.1 ±2.2	11.2 ±1.6	32.4 ±2.9	15.0 ±1.6	40.8 ±1.1	20.7 ±0.9	29.2 ±1.7	16.9 ±0.5
Dy^{3+}	34.7 ±2.0	20.3 ±1.3	33.4 ±3.5	23.2 ±1.6	28.6 ±1.5	21.7 ±1.0	22.7 ±1.3	17.6 ±0.7

* Bertini, I. *et al. J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 4181-4188.

図3　LBTを用いたランタノイドの固定化とPCS解析例

る。このような場合、より高い親和性でランタノイドイオンと結合する化学合成タグの有用性は高い。これまでに、EDTA誘導体[25]や1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid（DOTA）類縁体[26, 27, 6]を用いたタグが提案されてきた。DOTAはランタノイドイオンとK_D 10^{-25}～10^{-27}Mという高い親和性を示すため、観測試料における遊離ランタノイドイオンの影響は実質的に無視できる。タグの運動性を抑えるために、2箇所のジスルフィド結合による固定化をするCLaNP-5[6]や、メチル基や芳香環などでタグ自体を嵩高くすることで1点のジスルフィド結合での固定でもランタノイドイオンの運動性を抑えたDOTA-M8[26]やC1-tag[27]などが開発されている。また、後には、細胞内などの還元的環境におけるタグの利用を目指し、ジスルフィド結合に変えてチオエーテル結合で固定化するCLaNP-9[28]やM8-CAM-I[29]なども開発されている。DOTA-M8やM8-CAM-I、C1-tagなどは、ランタノイドとの結合親和性が高く、タグとランタノイドイオンの結合ー解離の交換が遅いために、ランタノイドの配位はタンパク質に結合する前に、タグのみに対して高温で行われる。そのため、遊離ランタノイドイオンがタンパク質に与える影響がほぼ無視できるというメリットがある一方で、用いるランタノイドイオンごとにタグの付加反応から別途サンプル調製をする必要があり、サンプル調製の手順は多くなる。それに対して、LBTを用いた系では、タンパク質にLBTを付加した後にランタノイドイオンを導入、さらには除去することが可能であるため、複数セットのデータを取得する場合の作業効率が高いというメリットがある。このように、ペプチドタグやキレート剤タグなど、これまでに多種のランタノイド結合タグが開発され、その多様な特性に基づいて用途に応じた使い分けが可能である。本稿では紙面の関係上ごく一部のタグについての紹介のみとさせていただくが、さらに多くのタグが総説論文で紹介されているので、ご興味のある方はご参照いただきたい[16, 17]。ランタノイド結合タグの開発によって、任意のタンパク質に対して、特定の部位にランタノイドイオンの固定が可能になり、常磁性効果を用いたNMR解析が、より多くのタンパク質に適用できるようになった。以降のセクションでは、常磁性ランタノイドイオンを用いたタンパク質の構造解析、特にPCSを用いた構造解析例を紹介する。

タンパク質複合体解析へのPCSの利用

タンパク質複合体の構造解析において、PCSは複合体を形成するタンパク質の相対配置に関する情報を与える点において有用性が高い。一般的なNMR構造解析において主要な情報源となるNOEは～5Åの原子核間の距離情報であるのに対し、PCSは～40Åという広範囲から観測され、その解析から定量的な距離・角度情報を取得することが可能である（**図2**）。著者らは、2点固定LBTを用いたタンパク質複合体の立体構造解析について、オートファジーのアダプタータンパク質であるp62のPB1ドメイン2量体[9]、およびラパマイシンによって複合体形成が誘導されるFKBP-FRB複合体[10]についての解析を報告した（**図4**）。いずれの場合も、複合体を形成する個々のタンパク質については剛体として扱い、PCSの値に基づいたドッキング計算を行なった。p62 PB1はhead-to-tailの配向でホモ多量体を形成するが、NMRでの解析のために、“head”または“tail”にアミノ酸変異を導入し、相互作用を阻害した変異体2種を作製し、両者を混合することによって、2量体が形成されるように設計した（**図4A**）。一方の変異体について2点固定LBTを導入し、ランタノイドイオンを固定した。Tm^{3+}, Tb^{3+}などの異方性常磁性効果を示すランタノイドイオンを用い、分子内および分子間PCSを観測し、それに基づいてXplor-NIHを用いて剛体ドッキング計算を行なった。PCSのみに基づいた計算においては、異なる配向を持つ複数のコンフォメーションが決定されたが、その理由として、PCS情報の対称性が挙げられた。PCSの理論式（**式1**）からも示されるように、PCSから得られる角度情報は縮退しており、1つのランタノイドイオンから得られるPCSデータセットのみでは、磁化率テンソル軸上での対象位置でもデータが満たされてしまい、見分けることができない。

$$\Delta\delta^{PCS} = \frac{1}{12\pi r^3}\left[\Delta\chi_{ax}(3\cos^2\partial - 1) + \frac{3}{2}\Delta\chi_{rh}\sin^2\partial\cos 2\varphi\right]$$

[式1]

ここで、$\Delta\partial^{PCS}$はPCS値、r、∂、φは磁化率テンソル主軸座標系における観測核の極座標表記、$\Delta\chi_{ax}$と$\Delta\chi_{rh}$は$\Delta\chi$テンソルのaxial（軸）成分とrhombic（菱形）成分を表す。p62 PB1およびFKBP-FRBのPCSに基づいた剛体ドッキング計算においては、大きく分類して4箇所に収束する

結果となったが、そのうちの1箇所についてはタンパク質間の接触があるが、残りの3箇所についてはタンパク質間の接触がなく、角度情報の縮退によるアーティファクトであると考えられた。このような縮退の問題を解消するためには、磁化率テンソルの軸が異なる複数セットのPCSデータを用いることが有効である。p62 PB1の実験系でも、4種のランタノイドイオンからのデータセットを用いたものの、それだけでは縮退を解消するには不十分であった。異なるランタノイドイオンを用いた場合、テンソル軸のx軸、y軸方向が20～30°程度の範囲で多様性がある場合が多く[15, 9]、その点では縮退の解消に有効ではあるが、同じタグを用いている場合には、常磁性金属の位置、すなわち磁化率テンソル軸の中心は共通し、またz軸方向も共通していることが多いため、効果が限定的である。p62 PB1の解析においては、結合に伴う化学シフト摂動から接触面に位置しているアミノ酸を推定し、接触面についての束縛条件を加えることによって、最終的に1箇所に収束した構造計算結果が得られている（**図4A**）。一方で、PCSを用いたドッキング計算のデモンストレーションとしては、PCSだけでは収束した解が得られないという点において不完全であった。タグを用いたPCS解析においては、縮退の問題を解消するためにはランタノイドの種類を変えるのみでは不十分であり、タグの固定部位を変更することが理想的と考えられるが、タグを固定する部位の選定には制約がある場合も多く、複数の固定部位を設計することが困難である場合も考えられる。そこで、2点固定LBTを用いた解析において、独立なPCSデータセットを取得するためのより簡便な手法として著者らは、LBTとタンパク質間のスペーサー配列の長さを変更する方法を提案し

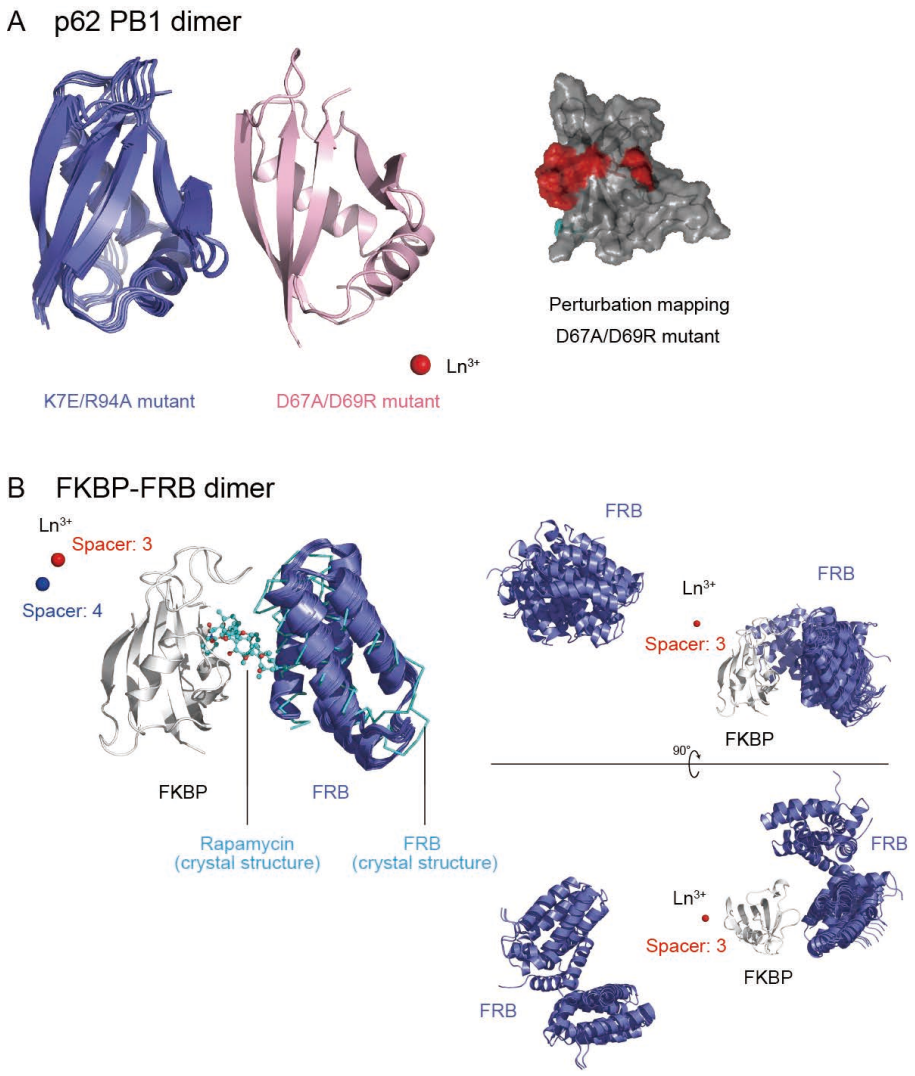


図4　PCSを用いたタンパク質複合体の構造解析

（A）PCSと化学シフト摂動に基づいたp62 PB1二量体の解析。（B）LBTのスペーサー配列を変えた2セットのPCSデータに基づいたFKBP-FRB二量体の解析。赤丸および青丸はランタノイドイオンの位置を示す。

た[10]。2点固定LBTにおいては、LBT配列をタンパク質のNまたはC末端に連結し、その近傍にCys変異を導入することで、システインとのジスルフィド結合とペプチド結合での2点で固定するが、LBTとタンパク質の連結においては、3～6残基程度のスペーサー配列が挿入される（**図3**）。通常、スペーサー配列は連結点間の距離に応じて最短の残基数が設定されるが、ここでは、［最短スペーサー長］＋1アミノ酸を用いることで、十分な異方性効果を保ちながら、金属の位置と、テンソル軸の方向が異なるデータセットを取得することができることが示された[10]（**図4B**）。スペーサー長を変えた2セットのデータを用いることによって、PCSのみに基づいて縮退を解消し、収束した計算結果が得られることが示された。

リガンド結合評価へのPREとPCSの利用

常磁性ランタノイドイオンから得られる長距離間の情報は、タンパク質ータンパク質複合体の構造解析だけにとどまらず、タンパク質と低分子リガンドの結合評価や構造解析にも有用である。例えばタンパク質に結合する化合物をスクリーニングする場合、常磁性プローブを使うことによって、単純な結合評価だけではなく、タンパク質の特定の部位に対する結合評価や結合様式の推定も可能になる。NMRを用いた部位特異的な結合評価法としては、有機ラジカルスピンラベルから誘導されるPREに基づいて、スピンラベル導入部位近傍への化合物の結合を評価するSLAPSTIC（spin labels attached to protein side chains as a tool to identify interacting compounds）法が提案されていた[30]。著者らは、常磁性ランタノイドイオンを用いることで、さらに拡張性のある解析が可能であることを示した[24]。ここでは、細胞内シグナル伝達を仲介するアダプタータンパク質Grb2のSH2ドメインと、それに結合するリガンドを対象とした実証が行われた（**図5**）。まず、ランタノイドイオンの中でも強いPRE効果を誘導するGd^{3+}をLBTによってSH2に固定し、化合物混合溶液に少量加えてNMR測定を行う。ここで化合物混合溶液の中に、目的タンパク質のランタノイド付近に結合するものが含まれれば、その化合物に由来する特定の信号についてPREによる強度減少が観測される（**図5A**）。結合が確認された化合物については、異方性常磁性ランタノイドイオンを固定したSH2を滴定することでPCS情報を取得可能であり（**図5B**）、PCSに基づいたドッキング計算によりSH2との複合体モデルが

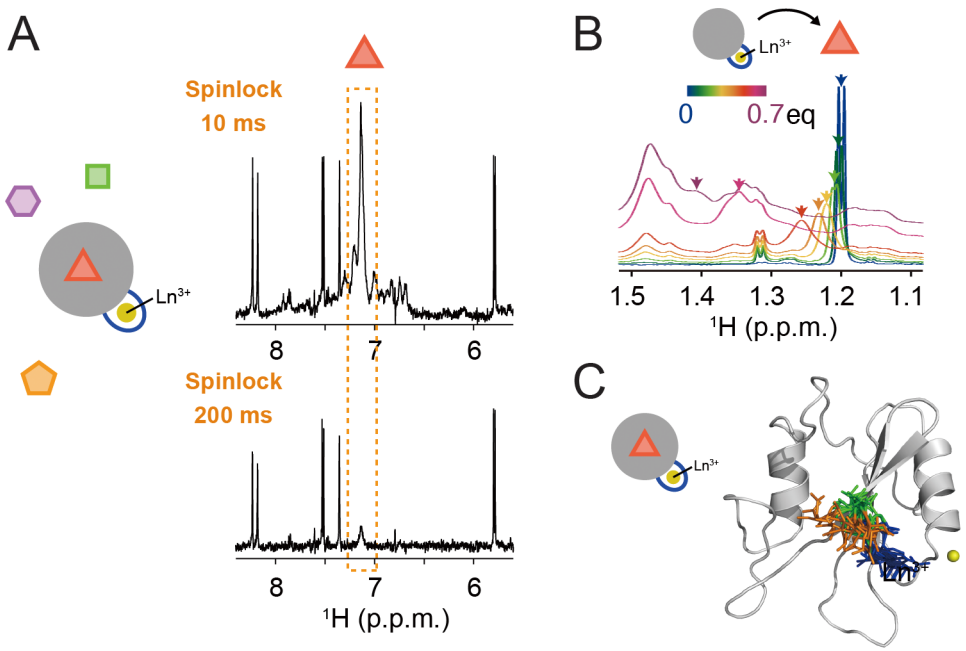


図5　常磁性効果を使ったリガンド結合評価とリガンドータンパク質複合体のドッキング
（A）PRE効果に基づいたリガンドの結合評価。常磁性ランタノイドイオンを固定したタンパク質を少量加えてspinlock測定を行い、PRE効果から結合リガンドを特定する。（B）分子間PCSの観測。リガンドに常磁性ランタノイドイオンを固定したタンパク質を滴定し、リガンドのNMR信号からPCSを観測する。（C）PCSに基づいたドッキング計算。Grb2 SH2を灰色のリボン、リガンド（pY-T-Nペプチド）を青色、緑色、橙色のスティック、ランタノイドイオンを黄色の球体としてそれぞれ表示している。

構築可能である（**図5C**）[24]。このように、LBTを使って複数種のランタノイドイオンを固定できるという特性を活かし、スクリーニングから構造評価までに適用可能な手法が提案された。この手法は、PCSを用いることによって、弱い結合を示す化合物であっても、結合の有無に止まらず目的タンパク質との複合体構造情報が比較的短期間の解析で得られるという利点がある。

マルチドメインタンパク質の構造変化解析における PCS と ESR の利用

タンパク質複合体、タンパク質－リガンド複合体に加えて、常磁性効果からの長距離情報が有効である構造解析に、マルチドメインタンパク質のコンフォメーション解析が挙げられる。複数のドメインから構成されるマルチドメインタンパク質は、ドメインの相対的な配向（コンフォメーション）を変化させながら機能するものが多いが、そのコンフォメーションの多様性や柔軟性から、立体構造解析が困難である場合も多い。一方で、基質の結合や酵素反応の制御など、さまざまな場面においてコンフォメーション変化が重要になる場合も多い。このような、マルチドメインタンパク質のコンフォメーション解析に対して、著者らは常磁性ランタノイドプローブ法の適用について報告した[31, 32]。ここでは、3つのドメインから構成される大腸菌細胞壁合成酵素MurDを対象とした解析が行われた。MurDは、細胞壁合成酵素murファミリーの一員であり、UDP-N-acetylmuramoyl-l-alanine（UMA）にD-Gluを連結する反応を担う酵素である。結晶構造解析からは、3つのドメインのうちdomain 3がdomain 1-2に対して開いた状態のopen状態、および閉じた状態のclosed状態の少なくとも2状態が存在すると推測されていた（**図6A**）。まず、CLaNP-5タグ[33]によって常磁性ランタノイドイオンをdomain 2に固定した。MurDの基質として知られる、ADP、ATPアナログ、UMA、および阻害剤を加え、それぞれの条件におけるPCSを観測したところ、基質や阻害剤などの結合に伴って、domain 3に由来する信号から顕著なPCS変化が観測された（**図6A**）。このPCS変化は、リガンド

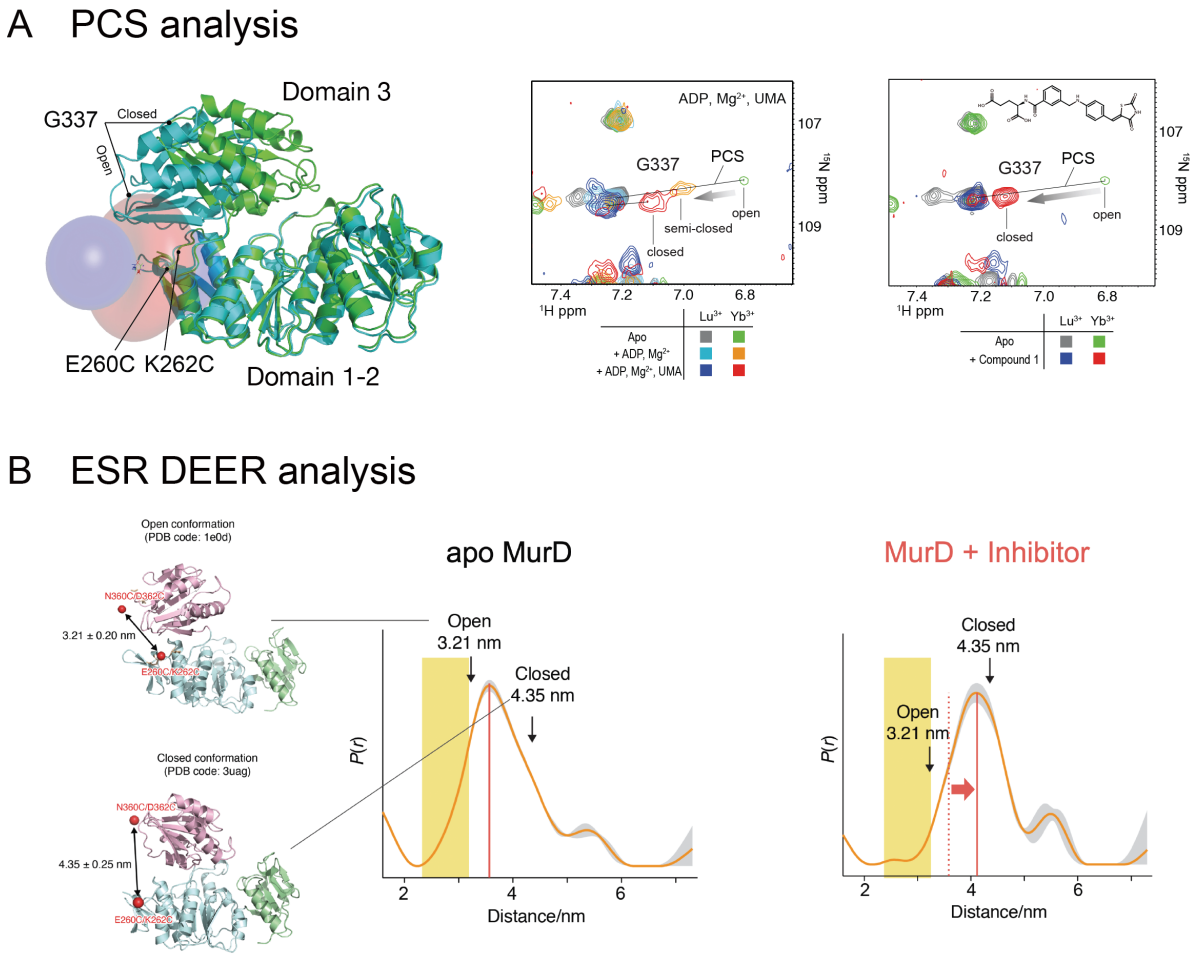


図6　常磁性タグを用いたマルチドメインタンパク質MurDの解析
（A）PCSに基づいた構造変化の解析。（B）ESR DEER測定によるコンフォメーション分布解析。

の結合に伴ってMurDのコンフォメーションが変化したことを示していた。興味深いことに、PCS解析の結果、ADPやATPアナログ結合状態において、MurDは開状態と閉状態の中間的な状態であるsemi-closed状態をとり、ADPとUMAが共存することで閉状態になることが明らかになった。MurDとリガンドの結合親和性を計測した結果、UMAとMurDの結合親和性はATP アナログ存在下で増強し、D-GluとMurDの結合親和性はADPとUMA存在下で増強することが示された。これらの結果は、MurDへのリガンドの結合が、他のリガンドの結合に伴うMurDのコンフォメーション変化によって制御されていることを示唆し、MurDが複数の基質と特定の順序で結合し、効率的な酵素反応を可能にしているというメカニズムの存在を示唆するものである。

常磁性ランタノイドイオンを用いたMurDのコンフォメーション解析について、著者らはNMRだけではなくESRの適用も行った[32]。ここでは、MurDのdomain 2とdomain 3のそれぞれに、CLaNP-5を用いてGd^{3+}を固定し、ESR測定、特にdouble electron-electron resonance（DEER）測定による距離測定が行われた。Gd^{3+}を用いた距離測定では、＜～8nm（80Å）の範囲における金属間の距離分布の情報が得られ[34]、そこからコンフォメーション分布の情報を取得することが可能である。測定の結果、リガンドが結合しないapo状態のMurDにおいては、金属間距離は広範囲な分布を示し、domain 3がdomain 2に対して様々な配向で存在していることが示唆された。一方で、阻害剤が結合した状態では、金属間距離の分布幅は減少し、阻害剤結合によってコンフォメーションの自由度が収束したことを示していた。MurDに対するMDシミュレーションや中性子散乱からも、apo MurDのdomain 3は高いコンフォメーション自由度と運動性を持つことが示された[35, 32]。さらに、MurDについてのMDシミュレーションからは、これまで知られていた開閉運動に加えて首振り運動があることが明らかになり、MurDのコンフォメーションダイナミクスについての理解が深まった。

終わりに

常磁性金属の適用は、NMR解析における長距離間の定量的情報の利用を可能にする。その適用は、タンパク質複合体の構造解析、タンパク質－リガンドの結合評価と構造解析、マルチドメインタンパク質の構造解析など、様々な場面に及ぶ。さらに、常磁性ランタノイドプローブを用いた立体構造に基づいた信号帰属[36]やダイナミクス解析の検討[37]、細胞内での構造解析への適用[29, 14]についても進められている。常磁性ランタノイドプローブ法は、かつては一部の金属結合タンパク質についての適用が主体であったが、様々なランタノイド結合タグの開発によって一般化されてきた。最近では、非天然アミノ酸を用いたタグの導入についても開発が進められており[38]、システイン残基に依存しないタグ導入が可能になっている。このように、常磁性ランタノイドプローブ法は、多方面での技術開発に支えられ、より強力で、より普遍的なものになったと言える。昨今、結晶構造解析技術が成熟し、クライオ電子顕微鏡の技術や構造予測ツールの精度も格段に向上し、タンパク質の立体構造はより身近なものになった。それが故に、静的な安定状態の立体構造だけでは理解が及ばない点が多々あることがより広く認知されるようになってきたと著者は感じている。このような状況において、立体構造を基盤に分子の動的な姿を捉え、機能を理解する研究の重要性と、そこでの溶液構造解析法に対する期待が高まっていると考える。今後、常磁性プローブを含むNMR構造解析技術の開発と、その適用による学術の発展を期待する。そのためにも、常磁性タグの市販品の充実や、解析ソフトの充実など、常磁性NMRへの参入障壁を下げる試みが必要とされるだろう。

謝　辞

本稿で紹介した常磁性ランタノイドイオンを用いた著者の研究は、故 稲垣 冬彦 教授［北海道大学］のご指導のもと開始・推進しました。ランタノイドイオンを用いたESRへの適用においては、石森 浩一郎 教授［北海道大学］のご指導のもと実施しました。参考文献も限られるなか、試行錯誤をする上で、稲垣教授、石森教授をはじめ、小橋川 敬博 准教授［熊本大学］、久米田 博之 博士［北海道大学］、横地 政志 研究員［大阪大学］、および稲垣研究室の方々から多大なるご指導、ご助言をいただきました。本稿の執筆に際しては、八木 宏昌 博士［理化学研究所（現、旭化成ファーマ株式会社）］から有益なご助言をいただきました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

引用文献

[1] Tugarinov, V., Kanelis, V. & Kay, L. E. Isotope labeling strategies for the study of high-molecular-weight proteins by solution NMR spectroscopy. *Nat. Protoc.* **1**, 749-754 (2006).

[2] Kainosho, M. et al. Optimal isotope labelling for NMR protein structure determinations. *Nature* **440**, 52-57 (2006).

[3] Pervushin, K., Riek, R., Wider, G. & Wüthrich, K. Attenuated T2 relaxation by mutual cancellation of dipole-dipole coupling and chemical shift anisotropy indicates an avenue to NMR structures of very large biological macromolecules in solution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**, 12366-12371 (1997).

[4] Ollerenshaw, J. E., Tugarinov, V. & Kay, L. E. Methyl TROSY: explanation and experimental verification. *Magn. Reson. Chem.* **41**, 843-852 (2003).

[5] 八木宏昌. 常磁性効果の基礎と生体高分子解析への応用. *NMR* 2017 **8**, 64-70 (2017).

[6] Keizers, P. H. J., Saragliadis, A., Hiruma, Y., Overhand, M. & Ubbink, M. Design, Synthesis, and Evaluation of a Lanthanide Chelating Protein Probe: CLaNP-5 Yields Predictable Paramagnetic Effects Independent of Environment. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 14802-14812 (2008).

[7] Bertini, I. et al. Paramagnetism-Based NMR Restraints Provide Maximum Allowed Probabilities for the Different Conformations of Partially Independent Protein Domains. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 12786-12794 (2007).

[8] Saio, T. et al. Ligand-driven conformational changes of MurD visualized by paramagnetic NMR. *Sci. Rep.* **5**, (2015).

[9] Saio, T., Yokochi, M., Kumeta, H. & Inagaki, F. PCS-based structure determination of protein-protein complexes. *J. Biomol. NMR* **46**, 271-280 (2010).

[10] Kobashigawa, Y. et al. Convenient method for resolving degeneracies due to symmetry of the magnetic susceptibility tensor and its application to pseudo contact shift-based protein-protein complex structure determination. *J. Biomol. NMR* **53**, (2012).

[11] Pintacuda, G., Park, A. Y., Keniry, M. A., Dixon, N. E. & Otting, G. Lanthanide Labeling Offers Fast NMR Approach to 3D Structure Determinations of Protein-Protein Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 3696-3702 (2006).

[12] Chen, J.-L. et al. 3D Structure Determination of an Unstable Transient Enzyme Intermediate by Paramagnetic NMR Spectroscopy. *Angew. Chemie Int. Ed.* **55**, 13744-13748 (2016).

[13] Pan, B.-B. et al. 3D structure determination of a protein in living cells using paramagnetic NMR spectroscopy. *Chem. Commun.* **52**, 10237-10240 (2016).

[14] Müntener, T., Häussinger, D., Selenko, P. & Theillet, F.-X. In-Cell Protein Structures from 2D NMR Experiments. *J. Phys. Chem. Lett.* **7**, 2821-2825 (2016).

[15] Bertini, I., Janik, M. B. L., Lee, Y. M., Luchinat, C., & Rosato, A. Magnetic Susceptibility Tensor Anisotropies for a Lanthanide Ion Series in a Fixed Protein Matrix. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 18, 4181-4188 (2001)

[16] Saio, T. & Ishimori, K. Accelerating structural life science by paramagnetic lanthanide probe methods. *BBA-Gen. Subj.* **1864**, 129332 (2020)

[17] Nitsche, C. & Otting, G. Pseudocontact shifts in biomolecular NMR using paramagnetic metal tags. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **98-99**, 20-49 (2017).

[18] Nitz, M., Franz, K. J., Maglathlin, R. L. & Imperiali, B. A Powerful Combinatorial Screen to Identify High-Affinity Terbium(III)-Binding Peptides. *Chembiochem* **4**, 272-276 (2003).

[19] Nitz, M. et al. Structural Origin of the High Affinity of a Chemically Evolved Lanthanide-Binding Peptide. *Angew. Chemie Int. Ed.* **43**, 3682-3685 (2004).

[20] Wöhnert, J., Franz, K. J., Nitz, M., Imperiali, B. & Schwalbe, H. Protein Alignment by a Coexpressed Lanthanide-Binding Tag for the Measurement of Residual Dipolar Couplings. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 44, 13338-13339 (2003)

[21] Zhuang, T., Lee, H. S., Imperiali, B. & Prestegard, J. H. Structure determination of a Galectin-3-carbohydrate complex using paramagnetism-based NMR constraints. *Protein Sci.* **17**, 1220-1231 (2008).

[22] Su, X.-C., Huber, T., Dixon, N. E. & Otting, G. Site-Specific Labelling of Proteins with a Rigid Lanthanide-Binding Tag. *Chembiochem* **7**, 1599-1604 (2006).

[23] Saio, T., Ogura, K., Yokochi, M., Kobashigawa, Y. & Inagaki, F. Two-point anchoring of a lanthanide-binding peptide to a target protein enhances the paramagnetic anisotropic effect. *J. Biomol. NMR* **44**, 157-166 (2009).

[24] Saio, T. et al. An NMR strategy for fragment-based ligand screening utilizing a paramagnetic lanthanide probe. *J. Biomol. NMR* **51**, 395-408 (2011).

[25] Ikegami, T. et al. Novel Techniques for Weak Alignment of Proteins in Solution Using Chemical Tags Coordinating Lanthanide Ions. *J. Biomol. NMR* **29**, 339-349 (2004).

[26] Häussinger, D., Huang, J. & Grzesiek, S. DOTA-M8: An Extremely Rigid, High-Affinity Lanthanide Chelating Tag for PCS NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 14761-14767 (2009).

[27] Graham, B. et al. DOTA-Amide Lanthanide Tag for Reliable Generation of Pseudocontact Shifts in Protein NMR Spectra. *Bioconjug. Chem.* **22**, 2118-2125 (2011).

[28] Liu, W.-M. et al. A Two-Armed Lanthanoid-Chelating Paramagnetic NMR Probe Linked to Proteins via Thioether Linkages. *Chem. - A Eur. J.* **20**, 6256-6258 (2014).

[29] Hikone, Y. et al. A new carbamidemethyl-linked lanthanoid chelating tag for PCS NMR spectroscopy of proteins in living HeLa cells. *J. Biomol. NMR* **66**, 99-110 (2016).

[30] Jahnke, W., Rüdisser, S. & Zurini, M. Spin Label Enhanced NMR Screening. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 3149-3150 (2001).

[31] Saio, T. et al. Ligand-driven conformational changes of MurD visualized by paramagnetic NMR. *Sci. Rep.* **5**, 16685 (2015).

[32] Saio, T. et al. Conformational ensemble of a multidomain protein explored by Gd^{3+} electron paramagnetic resonance. *Biophys. J.* (2021)

[33] Keizers, P. H. J., Saragliadis, A., Hiruma, Y., Overhand, M. & Ubbink, M. Design, Synthesis, and

Evaluation of a Lanthanide Chelating Protein Probe: CLaNP-5 Yields Predictable Paramagnetic Effects Independent of Environment. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 14802-14812 (2008).
[34] Yagi, H. et al. Gadolinium Tagging for High-Precision Measurements of 6 nm Distances in Protein Assemblies by EPR. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 10418-10421 (2011).
[35] Nakagawa, H. et al. Conformational dynamics of a multidomain protein by neutron scattering and computational analysis. *Biophys. J.* **120**, 3341-3354 (2021).
[36] Lescanne, M. et al. Methyl group assignment using pseudocontact shifts with PARAssign. *J. Biomol. NMR* **69**, 183-195 (2017).
[37] Hass, M. A. S., Keizers, P. H. J., Blok, A., Hiruma, Y. & Ubbink, M. Validation of a Lanthanide Tag for the Analysis of Protein Dynamics by Paramagnetic NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 9952-9953 (2010).
[38] Loh, C. T., Graham, B., Abdelkader, E. H., Tuck, K. L. & Otting, G. Generation of Pseudocontact Shifts in Proteins with Lanthanides Using Small "Clickable" Nitrilotriacetic Acid and Iminodiacetic Acid Tags. *Chem. - A Eur. J.* **21**, 5084-5092 (2015).

齋尾 智英（さいお・ともひで）
2002年 4月～2006年3月　北海道大学薬学部総合薬学科
2006年 4月～2008年3月　北海道大学生命科学院生命医薬化学コース修士課程
2008年 4月～2011年3月　北海道大学生命科学院生命医薬化学コース博士課程
2011年 3月　学位取得：博士（生命科学）
2011年 4月　北海道大学先端生命科学研究院、博士研究員
2011年10月　Rutgers University, Postdoctoral associate
2014年10月　北海道大学大学院理学研究院 助教
2014年10月　JST、さきがけ研究員（兼任）
2020年 9月　徳島大学先端酵素学研究所、教授、現在に至る

総説論文：解説

NMRによるアミロイド形成の原子レベル機構解明

京都大学大学院工学研究科
森本 大智
morimoto@moleng.kyoto-u.ac.jp

1. はじめに

神経細胞に異常な線維状のタンパク質凝集体（アミロイド）が蓄積することは、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の共通した病理学的特徴である[1]。そのため、アミロイドの形成や蓄積は神経変性疾患の発症や進行に関連していると考えられている[2]。アミロイド形成の最も特徴的な点は、タンパク質の構造変化を伴う複数の反応によって進行する点であり、結果として、アミロイド形成がほとんど見られないフェーズ（ラグフェーズ）、指数関数的に形成が進行するフェーズ（ログフェーズ）、そして形成が止まるフェーズ（プラトーフェーズ）が観察される[3]。これまで、複雑なアミロイド形成の分子メカニズムを理解するために様々な速度論的モデルが提案されてきたが[4, 5]、アミロイド形成中に起こる反応（モノマーからオリゴマー、オリゴマーから線維への状態変化）に関する原子レベルの構造的知見は依然として不足している。

アミロイド形成におけるタンパク質の過渡的な構造変化をその場かつ原子分解能で捉える方法としてレオロジーNMR法が挙げられる。レオロジーNMR法は1990年に高分子化学分野で確立された方法論であり[6]、剪断ストレスを試料に加えながらNMR測定ができる手法である。しかし、生物学的研究は数例あるものの[7, 8]、従来法ではNMR感度が低いためタンパク質科学にほとんど利用されてこなかった。このNMR感度の問題を克服するため、2017年に我々は極低温プローブ（プリアンプが約20Kまで冷やされたプローブ）を利用した新規のレオロジーNMR法を確立した[9]。ポリユビキチン鎖（ヘキサユビキチン）およびスーパーオキシドジスムターゼ1（SOD1）は剪断ストレスを加えない生理条件（pH、温度、イオン強度組成など）ではアミロイドを形成しないタンパク質であるが、構築したレオロジーNMR法によって剪断ストレスを加えることにより、これらのタンパク質のアミロイド形成を誘導することができ、その形成過程をNMR測定により追跡することができた[9, 10]。また、興味深いことに、レオロジーNMR法を用いてSOD1のアミロイド形成過程における過渡的な構造変化も捉え、線維形成中間状態の構造特性も明らかにすることができた[11]。本稿では、新しく構築したレオロジーNMR法とそれによって得られたアミロイド形成に関する原子レベルの構造学的知見について解説する。

2. 新規レオロジーNMR法の実施方法

従来のレオロジーNMR法は[7, 12～15]、インナーロッドを取り付けたサンプル管を電磁波照射とシグナル検出を担うプローブに直接挿入する必要があり、測定ごとにNMRマグネットからプローブを脱着する必要があった。しかし、極低温プローブの場合、コストや時間の観点から測定ごとのプローブの脱着は現実的ではない。実際、プローブの脱着が不要なレオロジーNMRハードウェアが開発されているが[8, 16, 17]、極低温プローブ搭載のNMR装置への導入実績は報告されていない。その中で我々は、通常の方法（リフトエアー）でサンプル管を極低温プローブ搭載NMR装置に入れ、その後インナーロッドを挿入するという、プローブ脱着を必要としない簡便なレオロジーNMR法を開発した（**図1a**）。外径3mmのガラス棒をサンプル管（外径5mm、内径4.1mm）に挿入することによって二重同心円管（クエットセル）が構成できる（**図1b**上）。サンプル管（外管）をNMR装置デフォルト機能であるスピナースピニングによって回転させることで、クエットセルのギャップ（0.55mm）内に入れた試料溶液に剪断流を発生させることができる（**図1b**下）。スピナースピニングの回転周波数は7Hzから50Hzの整数値に設定することができる。このレオロジーNMR法のインナーロッドの扱い方はエアープロ株式会社のホームページ（https://urheoe.

受領日：2023年5月29日　受理日：2023年7月9日　編集委員：栃尾尚哉

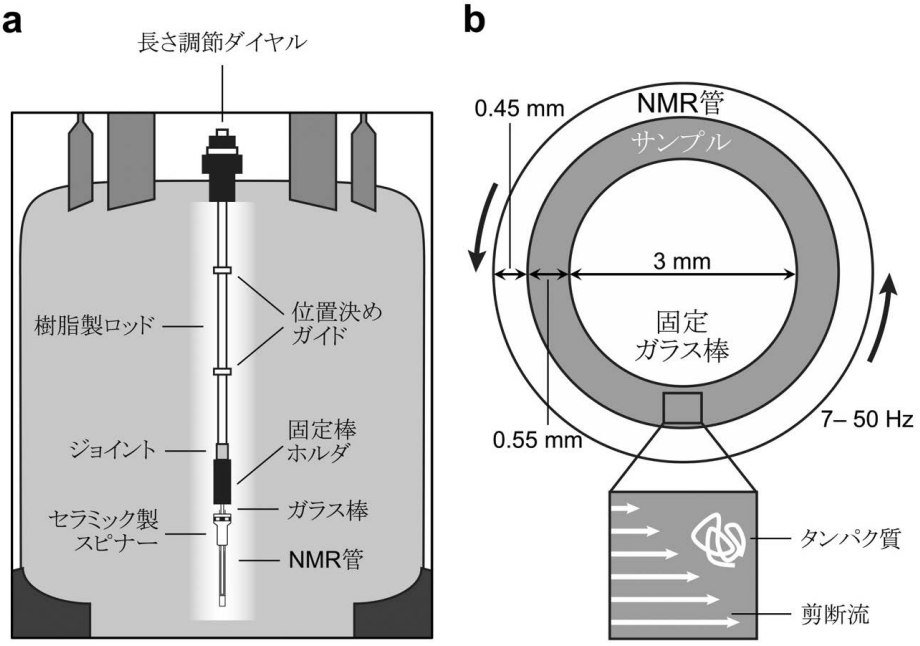


図1　新規レオロジー NMR法の模式図

a, クライオプローブを用いたレオロジー NMR法では、長さ調節ダイヤル（上）、樹脂製ロッド（中）、固定棒ホルダ（下）からなるインナーロッドをサンプル管に挿入する。固定棒ユニットの下端には3mmのガラス棒が接続されており、ガラス棒はサンプル管の中心に位置する。b, 3mmのガラス棒を5mmのサンプル管（内径4.1mm）に挿入する。サンプル管はスピナースピニングにより回転させ、ガラス棒は静止させる（上）。スピナースピニングによりサンプル溶液中に剪断流が発生する（下）。図はD. Morimoto, et al., *Curr. Protoc.* 2022, **2**, 1–15 [26] を改変したものである。

airpro-net.com/wp-content/uploads/2020/06/uRheo_guide.pdf）にも記載されている。ここでは、タンパク質NMR研究者の立場からレオロジー NMR実験に関する詳細を解説する。

2-1. NMR装置にサンプル投入

2-1-1. NMR装置の目標測定温度を設定する。高温（40℃以上）になると、アッパーシムスタックが膨張し始めるためインナーロッドの固定が不十分になる場合があるため注意が必要である。

2-1-2. 外径5mmのシゲミ社製NMRサンプル管に5–10% D_2Oを含む300 μLのサンプルを入れる（**図2a**左）。300 μLを大きく下回るとプローブコイルの検出可能範囲に気液界面があるため磁場の均一性が不十分になりS/Nが悪くなる。

2-1-3. サンプル管内のサンプル溶液を脱気する（**図2a**左から中）。NMR測定時に気泡が発生するのを防ぐため、NMR装置に投入前に5–10分程度の脱気処理を行う。

2-1-4. サンプル管にセラミックスピナーを深さ2cmのところで装着する（**図2a**中）。スピナー回転中のサンプル管の振動を軽減するため、比較的重いスピナーを使用する。また、挿入するインナーロッドの長さを一定にするためすべての実験でサンプル管の深さは2 cmに固定する。

2-1-5. リフトエアーでサンプル管をNMR装置に投入する（**図2a**左）。投入後、ロックディスプレイには比較的弱い（添加したD_2Oによる）ロックシグナルが観測されるが、これはサンプル溶液の一部がプローブの検出可能範囲外に位置しているためである。

2-1-6. スピナースピニングが適切に動作するか確認する（**図3c**）。この時点におけるスピナースピニングがうまくいかない場合は、NMR装置のエンジニアに問い合わせる必要がある。

2-2. NMR装置にインナーロッドを挿入

2-2-1. 固定棒ユニット（3mmガラス棒付き）を樹脂製ロッドに接続する（**図2b**左、中）。ガラス棒は蒸留水またはエタノールで軽く洗浄し、実験用ティッシュで軽く拭き完全に乾燥させる。

2-2-2. インナーロッド（樹脂製ロッドに接続された固定棒ユニット）をNMR装置に挿入する前に、挿入する部分（ガラス棒の下端から長さ調節ユニットの底までの領域）の長さをサンプル管の底からNMR装置のアッパーシムスタックの上までの高さに合わせる（**図3b**）。エアー

プロ株式会社のマニュアルに詳しく記載されているようにアッパーシムスタックの長さはNMR装置の種類によって異なり、ガラス棒の端がサンプル管の底面に密着することを防ぐためにインナーロッドの挿入領域をわずかに短く（～1cm）調整する必要がある。

2-2-3. インナーロッドをNMR装置内に慎重に挿入する。安全に挿入するため、固定棒ユニットには2つのゴム製Oリングがあり、樹脂製ロッドには複数（2–4個）の位置決めガイドがある。固定棒ユニットと位置決めガイドの直径はアッパーシムスタックの穴の直径よりわずかに小さく設計されているが、2つのゴム製Oリングの直径はわずかに大きく、ゴムの弾性によりインナーロッドを装置に固定できる。ただし、インナーロッドの約22cmの下部領域（ガラス棒の先端から固定棒ユニットの最初のゴムリングまで）にはアシストがなく、この領域を抜き挿しする際には細心の注意が必要である。

2-2-4. 長さ調節ユニット（樹脂製ロッドの上端部に装備）をアッパーシムスタックに装着する。アッパーシムスタック上面には数カ所突起があり、長さ調節ユニットにはその突起に合う穴が開いているので長さ調節ユニットの向きを調整してから挿入する。ガラス棒をサンプル管に挿入し終わると、強いロックシグナルが得られる（**図2b**右）。

2-3. インナーロッドの調整

剪断流存在下において適切かつ再現性よくNMRを測定するためには、挿入したガラス棒がサンプル管内の適切な深さに位置し（垂直位置、**図3a**）、正確に中央に位置する必要がある（水平位置、**図3d**）。ガラス棒が深すぎて下端がサンプル管の底に触れてしまうとスピナーは回転しない。一方、ガラス棒の位置が浅すぎる場合はガラス棒の下端がプローブの検出範囲に入るため、磁場の均一性を最適化することが難しくなり水消し

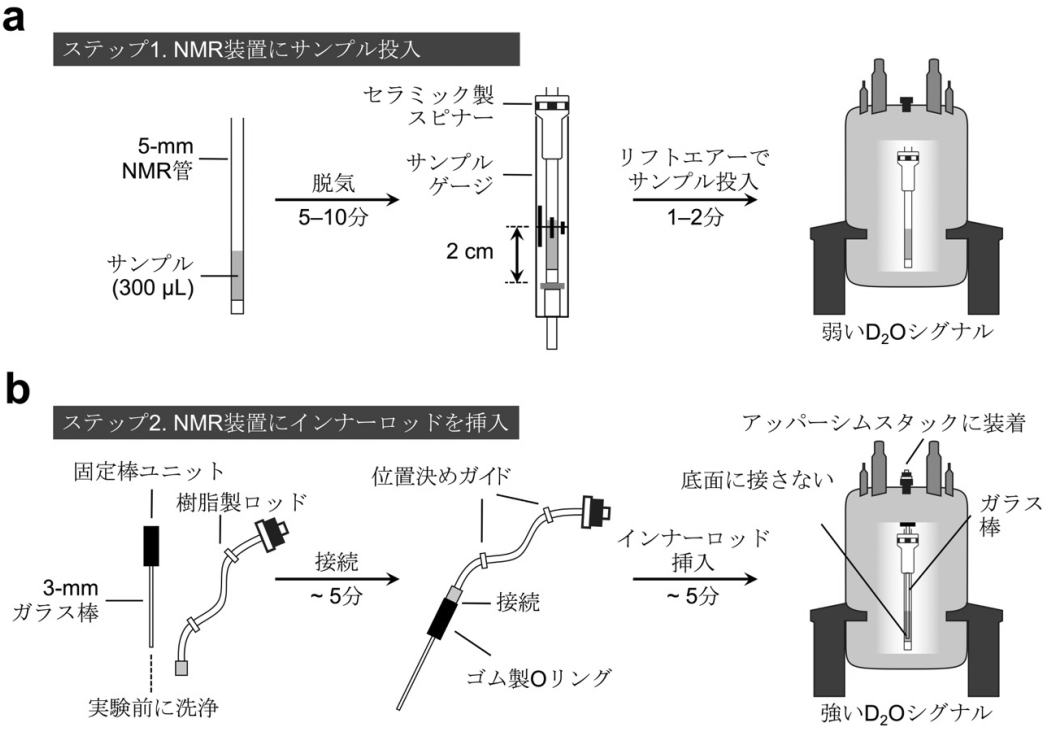


図2　レオロジー NMR測定のセットアップ

a, NMR装置へのサンプル管の投入方法。左、外径5mmのサンプル管に5–10% D_2Oを含む300 μLの試料溶液を入れる。NMR測定中に気泡が発生するのを防ぐため5–10分間脱気する。中央、サンプル管にはセラミックスピナーを装着する。サンプル管の底はゲージのセンターラインから深さ2cmの位置にセットする。右、リフトエアーでサンプル管をNMR装置に投入する。サンプル溶液の一部がプローブの検出範囲外に位置するためこの段階ではまだ比較的弱いロックシグナルが観測される。b, インナーロッドの挿入方法。左、樹脂製ロッドに外径3mmのガラス棒を接続した固定棒ユニットを取り付ける。ガラス棒は毎回使用前に洗浄する。中央、インナーロッドをNMR装置に慎重に挿入する。適切かつ安全に挿入するために、固定棒ユニットには2つのゴム製Oリングが装着されており、樹脂製ロッドには複数の位置決めガイドが備え付けてある。ガラス棒が正しく挿入されるとサンプル管内（つまりNMRプローブコイル内）のサンプル溶液レベルが上昇し、ロックシグナルの強度が上昇する。図はD. Morimoto, et al., *Curr. Protoc.* 2022, **2**, 1–15 [26] を改変したものである。

が十分におこなえない。加えて、発生する流れは安定した層流ではなくなり実験の再現性が悪くなる。また、適切な剪断流を得るためには挿入したガラス棒が中央に位置する必要がある。中央に位置していないと狭い隙間に生じる高い速度勾配や渦形成を招いてしまう[18]。

ガラス棒の垂直位置の調整

2-3-1. インナーロッドがNMR装置に適切に挿入されていることを確認する（**図3a** 1行目）。

2-3-2. インナーロッド挿入後、ロックシグナルが増加したか確認する（**図3a** 2行目）。インナーロッド挿入前後でロックシグナルに差が見られない場合、ガラス棒の垂直位置が浅すぎる（1cm以上）可能性があるため、インナーロッドを長くする必要がある。調節中にインナーロッドが捻れないように、インナーロッドを約10cmゆっくり引き上げ、ガラス棒をサンプル管から外す（**図3b**の1）。次に、白いネジを反時計回りに回し、アッパーシムスタックに接続するベースのロックを解除し（**図3b**の2）、取り外す（**図3b**の3）。長さ調節ダイヤルのロックを反時計回りに回転させて解除し（**図3b**の4）、ダイヤルも反時計回りに180度回転させ、挿入部位を約0.6cm長くする（**図3b**の5）。逆の操作をおこない、インナーロッドをNMR装置に再挿入する。

2-3-3. 長さ調節ユニットがアッパーシムスタックから浮いているかどうかを確認する（**図3a** 3行目）。浮いている場合は、挿入部が長すぎるため、挿入部分を短く調整し、その後、インナーロッドの浮きを再確認する。

2-3-4. スピナースピニングでサンプル管を回転させ、ガラス棒が適切な深さに挿入されている

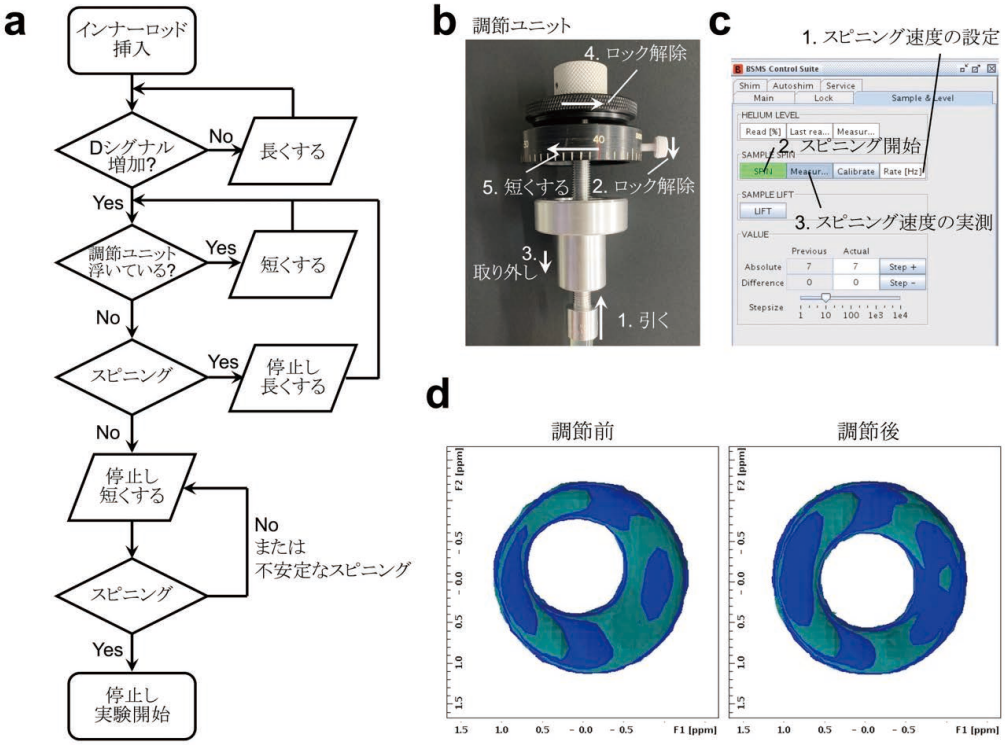


図3　レオロジー NMR実験におけるガラス棒の垂直と水平位置の調整

a, NMR装置に挿入するガラス棒の垂直位置を調整するためのフローチャート。サンプル内における渦の発生を防ぎ、磁場の均一性を高めるため、ガラス棒はサンプル管に適切な深さで挿入する必要がある。b, 調節ユニットを使用してガラス棒の垂直位置を調整する。1）インナーロッドをゆっくりと約10cm引き上げ、ガラス棒をサンプル管から離す。2）アッパーシムスタックに接続しているベースのロックを解除する（白いネジを反時計回りに回転させる）。3）ベースを取り外す。4）長さ調節ダイヤルのロックを解除する（長さ調節ダイヤルを反時計回りに回転させる）。5）インナーロッドを短くまたは長くする（長さ調整ダイヤルをそれぞれ時計回りまたは反時計回りに回転させる）。インナーロッドを再びNMR装置に挿入する場合は1から4の手順を逆に行う。c, スピナースピニング開始の手順。ソフトウェアtopspinのBSMSコントロールバー（コマンドbsmsdisp）。1）スピニング速度を設定する（7–50Hz）。初めの垂直位置調整では7Hz（最小速度）に設定する。2）「SPIN」をクリックし回転を開始する。3）「Measure」をクリックし実際の回転数をモニターする。d, サンプル管内のガラス棒の水平位置を調整する前（左）と後（右）の代表的な水のプロファイル。図はD. Morimoto, et al., *Curr. Protoc.* 2022, **2**, 1–15[26]を改変したものである。

か確認する（**図3a** 4行目）。スピナースピニングを開始するためには、topspinでBSMSコントロールスイートを開き、スピニング速度を最小値である7 Hzに設定する（**図3c** 1）。位置調整の段階でサンプルに不必要な剪断力が加わらないように、スピニング速度は可能な限り最小値に設定する。次に、「SPIN」ボタンをクリックして回転を開始する（**図3c** 2）。即座に「Measure」ボタンをクリックし、実際のスピニング速度をモニターする。ガラス棒の底面がサンプル管に直接触れていなければ、スピナーは7 Hzの安定した回転を30秒間以上続けるはずである（**図3c** 3）。

ガラス棒の水平位置の調整

2-3-5. 通常のNMR測定におけるチューニング、マッチング、シミングを行う。シミングはシム自動最適化プログラムのtopshimを使用できるが1次元シミングのみをおこなう。ガラス棒がサンプル管に挿入されているため、3次元シミングは困難である。

2-3-6. Bruker社製NMR装置でデフォルト機能としてあるコマンドtopshim 3d rag mapを実行して、サンプル管内の水の3次元イメージ（**図3d**）を測定する。測定したイメージの水平断面から、ガラス棒が適切に挿入されているか判断する（**図3d**）。水の3次元イメージはtopshimDataと名付けられたディレクトリに保存される。

2-2-7. ガラス棒が中心からずれている場合、インナーロッドをゆっくり10 cmほど引き上げガラス棒をサンプル管から外し、インナーロッドを90度以下（反）時計回りに回転させインナーロッドをNMR装置に再度挿入する。

2-3-8. サンプル管内の水の3次元イメージを再測定し、ガラス棒のセンタリングが改善されたかどうかを確認する。

2-3-9. ガラス棒のセンタリングが適切であれば、再度、1次元シミングをおこない、手動で三次元シミングをおこなう。その後、通常のタンパク質NMR実験と同様に、測定のセットアップに進む（90度パルス長とパワーのキャリブレーション、パルスプログラム、スペクトル幅など）。

3. SOD1のアミロイド形成における多状態同時構造解析

新規に構築したレオロジーNMR法を用いて、筋委縮性側索硬化症（ALS）関連タンパク質であるSOD1のアミロイド形成過程を原子レベルで解析した。一般的に、アミロイドを形成する球状のタンパク質はオリゴマー化や線維形成する前に、その三次構造をアンフォールディングする[19]。したがって、アンフォールド状態の挙動（フォールド状態からの形成とオリゴマー状態への移行）を追跡することはアミロイド形成における核形成メカニズムを理解する上で重要である。しかし、アンフォールド状態自体は生理的条件下（中性pH、室温付近）では非常に限られた割合しか存在しないため直接解析することは困難である。実際、アンフォールドしたSOD1は生理的条件下において0.5％しか存在しなかった[11]。そこで、我々はタンパク質のアンフォールディングを誘導する尿素を用いた中程度の変性条件下で、SOD1のフォールド状態とアンフォールド状態のNMRシグナルを同時に追跡した（**図4a**）。2M尿素存在下ではフォールド状態とアンフォールド状態は^{1}H-^{15}N HSQCスペクトルのクロスピーク強度比からそれぞれ65％と35％と見積もられた。つまり、この条件において両状態を同時かつ十分なNMR感度で追跡することができる。

この尿素存在下でレオロジーNMR法を用いて溶液中に剪断流を発生させ、連続的に^{1}H-^{15}N HSQCスペクトルを測定すると、SOD1のフォールド状態とアンフォールド状態由来のNMRシグナルはいずれもシグモイド曲線様に減衰することが観察された（**図4b**）。実際、レオロジーNMR実験後の溶液を透過型電子顕微鏡で観察するとアミロイド線維が形成されていることが確かめられた[11]。興味深いことに、状態および残基によって異なる減衰プロファイルを示すことがわかった（**図4b**）。そこで、定量的に減衰プロファイルの違いを解析するために修正シグモイド関数でデータフィッティングし、減衰カーブの非対称性因子αと定数Cという二つのパラメータを得た。

アンフォールド状態の非対称性因子αは全体的に小さな値を示し、残基間で大きな差異がなかった（**図4c**左上）。それに対し、フォールド状態のGly78、Asp79、His80は比較的大きな非対称性因子αを示した（**図4c**左上）。これは、これらの残基のNMRシグナルが他の残基に比べて減衰が早かったこと意味する。フォールド状態では、これらの残基は3_{10}ヘリックスを形成する。つまり、3_{10}ヘリックスが全体的なアンフォールディング

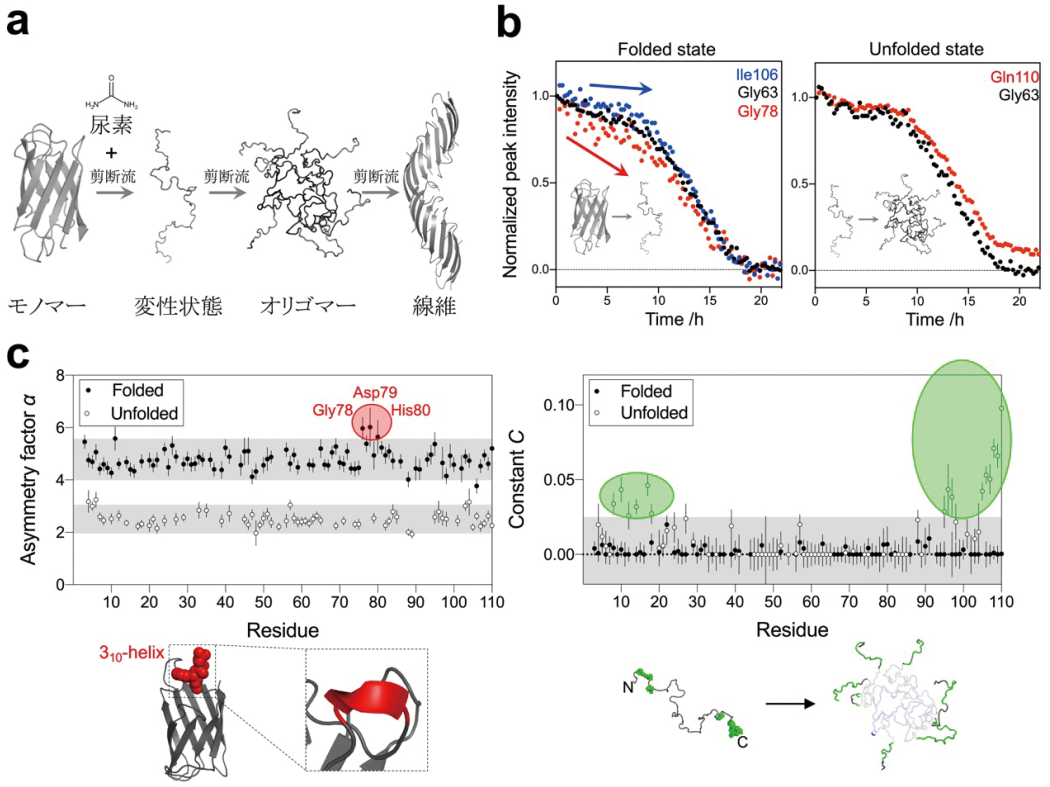


図4　レオロジー NMR 法による SOD1 のアミロイド形成過程の追跡

a, 尿素存在下における SOD1 のアミロイド形成の模式図。アンフォールディングされた SOD1 はアミロイドオリゴマーや線維の前駆体であるため、尿素によるアンフォールディングは SOD1 のアミロイド形成を促進する。尿素による中程度の変性条件下では、SOD1 のフォールド状態とアンフォールド状態の両方の NMR シグナルが検出可能である。b, 剪断流によるアミロイド形成過程における SOD1 のフォールド状態（左）とアンフォールド状態（右）のクロスピークの強度変化。c, ピーク強度減衰プロファイルを修正シグモイド関数でデータフィッティングして得られた減衰カーブの非対称性因子 α（左上）と定数 C（右上）の残基に対するプロット。顕著に大きな値を示した残基をフォールド状態（左下、赤）、アンフォールド状態（右下、緑）にマッピングしている。

よりも前にアンフォールディングすることが示唆された（**図4c**左下）。

また、フォールド状態のいずれの残基も定数 C はほぼゼロの値を示したが、アンフォールド状態の N 末端と C 末端にある残基でのみ大きな定数 C を示した（**図4c**右上）。つまり、これらの残基の NMR シグナルがオリゴマーや線維状態においても検出されたことを意味しており、N 末端と C 末端にある残基はオリゴマーや線維状態でも柔軟に動くことができたと考えられる（**図4c**右下）。

これらの解析から、SOD1 のアミロイド形成過程において、全体的なアンフォールディングの前に 3_{10} ヘリックスのアンフォールディングが引き起こることがわかり、オリゴマー状態や線維状態における柔軟な領域を特定することができた。次に、どのようにアンフォールド状態がオリゴマーを形成するかを調べるため、ほぼ完全にアンフォールディングする条件（4M 尿素存在下）で水素交換実験（CLEANEX-PM）をおこなった。タンパク質のアミドプロトンと水との間の水素交換は溶媒への露出または保護の程度に依存する。したがって、水素交換プロファイルはオリゴマー形成におけるモノマー分子同士の相互作用を知るために有用な情報となる。オリゴマーはアンフォールド状態の分子が段階的に分子間相互作用することによって形成され、結果的に水素交換プロファイルは絶えず変化すると考えられる。

実際、実験開始時とラグフェーズにおける水素交換を比較したところ、50番付近の残基において相対的に水素交換が減少していた（**図5a**右上）。水素交換が減少した残基は実験開始時に比べてラグフェーズでより溶媒から保護されていることを意味する。さらに、二種類のログフェーズで水素交換を測定し、比較したところ、28番から50番に存在する残基でアミロイド形成が進むにつれて水素交換が減少していることが観察された（**図5a**右中央、右下）。これらの水素交換が減少した残基は、過去の研究で特定した線維コア構造を形成する残基と一致しており[20]、アミロイド形成においてこれらの同定した残基を介して分

子間で相互作用し、オリゴマーのコア構造を形成することが示唆された。

このように新規レオロジーNMR法を用いて、SOD1のアミロイド形成過程における構造変化を、その場かつ原子分解能、そして複数の状態について同時に追跡することができた（**図5b**）。このような時空間分解能の高い構造解析をおこなうことで複雑なアミロイドの形成機構のさらなる理解に役立つことを期待する。

4. おわりに

クライオプローブを用いたレオロジーNMR法は、蛍光や円二色性などの他の方法では困難であったタンパク質凝集におけるアミノ酸および状態特異的な構造情報を原子分解能で追跡することが可能である。そのため、アミロイドβ、α-シヌクレイン、タウなど多くの神経変性疾患関連タンパク質の凝集をその場かつ高分解能で解明することに貢献できると考える。さらに、タンパク質凝集だけでなく、von Willebrand因子[21]やFimH[22]などの非凝集性タンパク質の剪断流による構造変化を解析することにも役立つことができるであろう。また、剪断流は高分子複合体溶液の粘度上昇[23]や無機・有機化合物の結晶化促進[24, 25]にも関係していることから幅広い研究分野に貢献する可能性がある。

現在、本レオロジーNMR法はNMR感度ならびに分解能で世界最高を達成している。しかし、スピナー回転の回転数が制限されている点や、使用するNMR試料管が開放系になり試料の蒸発が問題になる点など、改善点が幾つも存在する。今後、より改良したレオロジーNMR法の開発に従事したいと考える。

5. 謝　辞

本研究を実施するにあたり、京都大学大学院工学研究科 白川昌宏教授、京都大学大学院農学研究科 菅瀬謙治教授、京都大学大学院医学研究科 Erik Walinda助教、IPF Ulrich Scheler博士、ブルカージャパン株式会社 山本昭彦氏から多大な

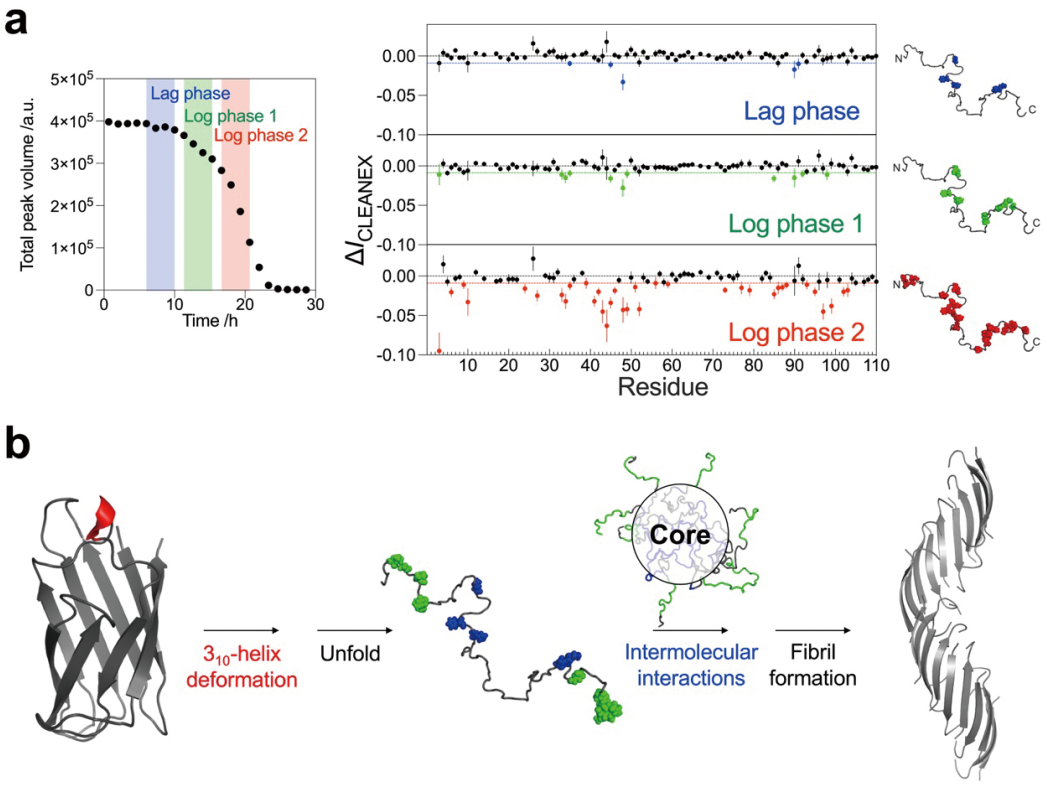


図5　アミロイド形成のフェーズ依存的な水素交換プロファイル

a, アミロイド形成の異なるフェーズにおけるSOD1のアミドプロトンと水の間の水素交換の変化。4 M尿素が存在する条件下ではSOD1はほぼ完全にアンフォールド状態にある。左、レオロジーNMR実験におけるすべてのクロスピークのピーク強度の和の時間変化。中央、実験開始時とラグフェーズ（青）、ログフェーズ1（緑）、ログフェーズ2（赤）との水素交換の差。右、顕著に水素交換が実験前と比べて減少している残基をSOD1のアンフォールド状態の構造にマッピング。b, レオロジーNMR実験に基づいたSOD1のアミロイド形成モデル。全体的なアンフォールディングの前に3_{10}ヘリックスがアンフォールディングし（赤）、50番付近の残基を中心にオリゴマーの核を形成し（青）、N末端とC末端の領域はオリゴマー状態や線維状態において柔軟に動いている（緑）。

る助言および指導を賜りました。また、本研究は科学研究費補助金、公益財団法人島津科学技術振興財団、みずほ学術振興財団、服部報公会、豊田理化学研究所、京都大学ジョン万プログラム、蛋白質研究奨励会、ソルト・サイエンス研究財団の支援を受けました。

引用文献

[1] C. Ross, M. Poirier, *Nat. Med*. 2004, **10 Suppl**, S10-7.
[2] M. G. Iadanza, M. P. Jackson, E. W. Hewitt, N. A. Ranson, S. E. Radford, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2018, **19**, 755-773.
[3] P. Arosio, *Phys. Chem. Chem. Phys*. 2015, **17**, 7606-7618.
[4] F. Oosawa, M. Kasai, *J. Mol. Biol*. 1962, **4**, 10-21.
[5] G. Meisl, J. B. Kirkegaard, P. Arosio, T. C. T. Michaels, M. Vendruscolo, C. M. Dobson, S. Linse, T. P. J. Knowles, *Nat. Protoc*. 2016, **11**, 252-272.
[6] A. I. Nakatani, M. D. Poliks, E. T. Samulski, *Macromolecules* 1990, **23**, 2686-2692.
[7] K. Ohgo, F. Bagusat, T. Asakura, U. Scheler, *J. Am. Chem. Soc*. 2008, **130**, 4182-4186.
[8] P. J. B. Edwards, M. Kakubayashi, R. Dykstra, S. M. Pascal, M. A. K. Williams, *Biophys. J*. 2010, **98**, 1986-1994.
[9] D. Morimoto, E. Walinda, N. Iwakawa, M. Nishizawa, Y. Kawata, A. Yamamoto, M. Shirakawa, U. Scheler, K. Sugase, *Anal. Chem*. 2017, **89**, 7286-7290.
[10] N. Iwakawa, D. Morimoto, E. Walinda, Y. Kawata, M. Shirakawa, K. Sugase, *Int. J. Mol. Sci*. 2017, **18**, 2271.
[11] N. Iwakawa, D. Morimoto, E. Walinda, M. Shirakawa, K. Sugase, *J. Am. Chem. Soc*. 2021, **143**, 10604-10613.
[12] M. M. Britton, P. T. Callaghan, M. L. Kilfoil, R. W. Mair, K. M. Owens, *Appl. Magn. Reson*. 1998, **15**, 287-301.
[13] P. T. Callaghan, in *Encycl. Magn. Reson*., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2002, pp. 737-750.
[14] P. T. Callaghan, Rheol. *Acta* 2008, **47**, 243-255.
[15] B. Medronho, J. Brown, M. G. Miguel, C. Schmidt, U. Olsson, P. Galvosas, *Soft Matter* 2011, **7**, 4938.
[16] T. I. Brox, B. Douglass, P. Galvosas, J. R. Brown, *J. Rheol. (N. Y. N. Y)*. 2016, **60**, 973.
[17] S. Kuczera, L. Gentile, T. I. Brox, U. Olsson, C. Schmidt, P. Galvosas, *Langmuir* 2018, **34**, 8314-8325.
[18] B. Y. Ballal, R. S. Rivlin, *Arch. Ration. Mech. Anal*. 1976, **62**, 237-294.
[19] F. Chiti, C. M. Dobson, *Nat. Chem. Biol*. 2009, **5**, 15-22.
[20] L. Lang, M. Kurnik, J. Danielsson, M. Oliveberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*. 2012, **109**, 17868-17873.
[21] H. Fu, Y. Jiang, D. Yang, F. Scheiflinger, W. P. Wong, T. A. Springer, *Nat. Commun*. 2017, **8**, 324.
[22] W. E. Thomas, E. Trintchina, M. Forero, V. Vogel, E. V Sokurenko, *Cell* 2002, **109**, 913-923.
[23] Y. Shangguan, M. Liu, G. Luo, Q. Zheng, *RSC Adv*. 2016, **6**, 110367-110374.
[24] J. Wang, J. Bai, Y. Zhang, H. Fang, Z. Wang, *Sci. Rep*. 2016, **6**, 26560.
[25] J.-K. Sun, Y. I. Sobolev, W. Zhang, Q. Zhuang, B. A. Grzybowski, *Nature* 2020, **579**, 73-79.
[26] D. Morimoto, E. Walinda, A. Yamamoto, U. Scheler, K. Sugase, *Curr. Protoc*. 2022, **2**, 1-15.

森本 大智（もりもと・だいち）
2009年 京都大学工学部工業化学科 卒業、2011～2014年 日本学術振興会 特別研究員DC1、2014年4～8月京都大学工学研究科 研究員、2014年9月京都大学大学院工学研究科助教（現職）、2015年京都大学大学院工学研究科分子工学専攻 博士（工学）取得、2023年4月国立研究開発法人科学技術振興機構 創発的研究支援事業 創発研究者

NMR講座：NMR基礎講座

ベクトルモデルはどのぐらい信じてよいのか？

横浜市立大学・生命医科学研究科
池上 貴久
ikegamit@yokohama-cu.ac.jp

はじめに

原子、そして、その中の核や電子の振る舞いを古典力学で説明しようとしても、うまく説明できない場合がある。例えば、古典力学によれば、電子が核の周りを回っているとすると、それは電磁波のエネルギーを放出しながら回るはずなので、瞬く間にどんどん速度が落ちて核に吸い込まれてしまうはずである。シンクロトロンで荷電粒子である電子を移動させると、電子は電磁波エネルギーを放出しながら周回するので、常に電磁場を通してエネルギーを供給し続けなければならない（ここで放出されたX線は結晶構造解析などに利用できる）。しかし、量子力学によると、電子は波動性も持つため、核に吸い込まれることなくその周りを回り続けることができると説明される（ド・ブロイ[1]）。しかし、このように量子力学が正しいからと言って、磁気共鳴のすべてを量子力学で説明しようとすると、教科書や論文は数式の嵐となり、生物・薬学・医学系の人はとてもMRIなどの磁気共鳴を使いたいとは思わないだろう。よってベクトルモデルや、コマの歳差運動のような古典力学になぞらえながら磁気共鳴を理解することは、たとえそれが少しぐらい不正確であったとしても重要なことではないかと思われる。実際、新しいパルス系列などのアイデアを思い付く場合、それは無味乾燥な数学の行列から導かれるのではなく、ベクトルモデルのような簡単なイメージから湧いてくるのではないだろうか？NMR現象を理解するのに、筆者が院生であった30年前は直積演算子（product operator）の表を理屈抜きに覚えさせられた。全てはこれを覚えてから始まる。この直積演算子を使うと、論文に出てくるほとんどの、少なくとも溶液NMRのパルス系列を理解することができる。この直積演算子は、もともとは密度行列を使った量子力学の説明から導き出されてはいるものの、その香りをほとんど感じさせない。そして、それをさらに古典力学に焼き直した磁化のベクトルモデルに至っては、もはや数式のない描像のみの世界である。とはいえ、化学NMRや蛋白NMRの分野では、もうそれで十分であるようにも思われる。この記事では、文献を参考にしつつ、ベクトルモデルだけで本当に充分なのか、ベクトルモデルに持っていくために止むを得ず削られてしまった量子力学的要素をもう少し取り入れることはできないのか、そのような改良型モデルはどのようなモデルなのかについて議論したい。

まず以下の話の前に注意点を二つ記したい。

一つ目は、個々のスピンと、それらを集めた磁化とを区別しないといけないという点である。ここでは前者を微視的スピンベクトル、後者を巨視的磁化ベクトルと表すことにする。ベクトルと書いたが、単なる矢印である。“スピン”といえば微視的（ミクロ）で量子力学に基づいており、磁化といえば巨視的（マクロ）で古典力学に基づいている。この両者を区別したい。

二つ目は、スピンとラーモア（Larmor）歳差運動を混同しないようにしないといけないという点である。しばしば書籍には「正電荷を持った核、あるいは負電荷をもった電子が自転するのでスピン角運動量と磁気モーメントが生じる」と書かれている。なお、荒田先生の「NMRの書[2]」によると、実際には核は自転していないらしい（これを読んだ時はショックを受けた）。このスピン角運動量はNMR磁石の中に入れようが入れまいが存在する。スピン量子数1/2のスピンは磁気双極子（ミニ棒磁石）に例えることができ、これをNMR磁石の中に入れると、静磁場を軸として歳差運動すると考えることができる。その時の回転速度は静磁場の大きさ B_0 に比例して、$-\gamma B_0$（*rad/s*）となる[3]。これをラーモア歳差運動（**図1**の緑線）と呼ぶが、自転になぞらえられるスピン（同図のオレンジ線）と混同しないようにしたい。

受領日：2023年6月5日　受理日：2023年8月3日　編集委員：池谷鉄兵

90°パルスを打つとスピンはどうなるのか？

NMR磁石の中に入っている水試料に^{1}Hの90°パルスをy軸が回転軸となるように打った時の挙動は**図2**のように表される。これを直積演算子で表すと

$$I_z \xrightarrow{90°\,I_y} I_x$$

のようになる（スピンは一種類であるので、厳密には$2I_x S_z$のような“直積”ではないが）。ところで、**図2**の矢印は巨視的磁化を表しており、個々のスピンを表しているわけではない。つまり、試料1mL中にある10^{17}個ほどの^{1}H核スピンの集団の合計を表している。それでは、90°パルスを打った時の現象を、もしミクロな目で見ることができれば、どのようになるのだろうかという疑問が湧く。そこで大昔、筆者が大学院で在籍していた京極研（蛋白研）にあったたくさんの蔵書を紐解いてみた。

多くの教科書には、**図3**左のようなコーン（円錐）が描かれており、その表面に沿うようにしてたくさんのスピンが歳差運動（precession）していると書かれていた。この動きはすり鉢で味噌をすることにも似ていることから「味噌擂り運動」とも呼ばれる。**図3**右の地球ゴマで遊んだ経験があれば、歳差運動という奇妙な動きが実感できるのであるが、それに懐かしさを感じてしまった読者はまずまずの年齢であろう。

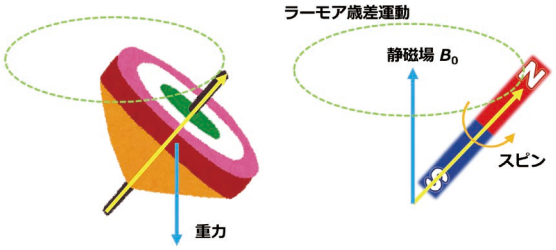


図1　歳差運動しながら自転しているコマ（左）とよく似た振る舞いをしているとされるスピン（右）

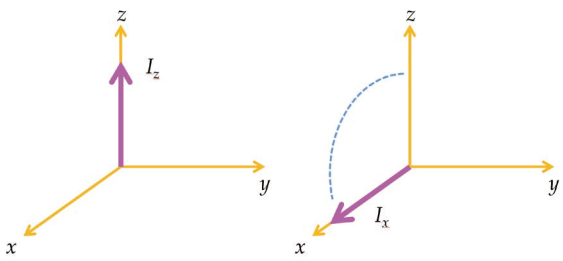


図2　熱平衡状態の磁化（左）に90°パルスをy軸が回転軸となるように打った結果（右）

さて、サンプルをNMR磁石の中に入れて何もパルスを打っていない時の熱平衡状態に90° I_yパルスを打つとどうなるのだろうか？ 30年前、私は2つの教科書に出会った。一つには、**図4**左のような絵が描かれていた。スピンは歳差運動を続けているのであるが、全てがx軸辺りに束ねられたような状態になっている。確かに個々のスピンを微視的ベクトルで表すと、それらの合計はx/y平面上をともにほぼ同じ速度でz軸を軸として回転するので、その合計は**図2**右のような巨視的磁化ベクトルI_xとなるだろう。そして、このスピンベクトルが時間とともにばらけてくる（**図4**右）。すると、これらの合算であるx/y平面上の磁化ベクトルの大きさはだんだんと小さくなる。これがT_2緩和による信号の広幅化を意味するそうである。その時は納得して大いに喜んだのであるが、ひとつ大きな疑問が残った。これでは熱平衡状態での磁化I_zの大きさと、90°パルス直後の磁化I_xの大きさが異なってしまうのではないかという点である。しかし、実際にはこの二つの大きさは等しいはずである。すると、**図4**のような描像は間違えているのではないだろうか？

そして、また別の教科書を見てみると、今度は**図5**のような絵が描かれていた。これならばI_zとx/y平面上における磁化I_xの大きさが同じにな

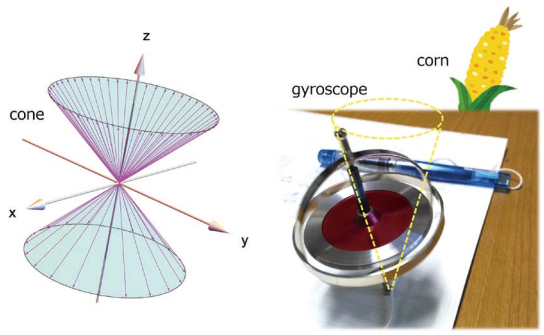


図3　円錐に沿って歳差運動するスピンを表すベクトル（左）と自転しながら歳差運動する地球ゴマ（右）

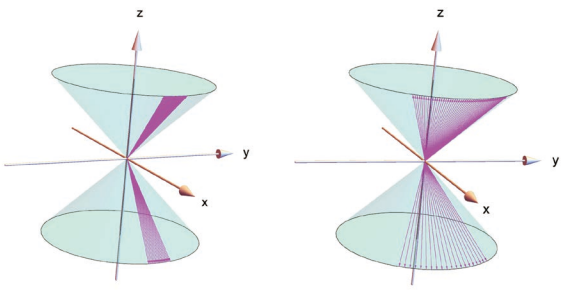


図4　磁化I_xをスピンベクトルで表した円錐モデル（左）とT_2緩和（横緩和）によりそのスピンベクトルがx/y平面上で散らばっていく様子（右）

る。しかし、T_2緩和によるスピンのx/y平面上での散らばりは、どのように説明すればよいのだろうか？

この疑問は長らく頭の中にくすぶり続けたがよく分からず、スピンと磁化の描像を何度も摩り替えながら、これが前者の「量子」と後者の「古典」の間の違いであり、混ぜることはできないのだと、自分に言い聞かせて納得していた。しかし、探してみると、この疑問に答えてくれるような文献や教科書はいくつか見つかるもので[4～7]、私の理解が正しいかどうかははっきりしないが、以下にそれらを自習の意味も含めてまとめてみた。

円錐モデル

図3で掲げた円錐モデルであるが、これはどのような背景により生まれたのだろうか？ 量子力学によると、スピン量子数Iの核がスピンをもっていたとすると、スピン全体の大きさ（スピン角運動量）は$\sqrt{I(I+1)}$と表される（簡単のため$\hbar$を省略）。代表的な$I=1/2$の^{1}H核を考えた場合、この値は$\sqrt{3}/2$となる。一方、静磁場z軸に沿った角運動量は$\pm 1/2$である。よって、スピンがz軸に対して54.7°（実は、マジック角）傾いていると仮定すると、**図6**のように大きさに辻褄が合ってくる。なお、この**図6**でx, y方向の角運動量の大きさを見てみると、これは$\sqrt{2}/2$となり、z軸方向の$1/2$とは大きさが異なる。実はパルスを打っていない状態でもx, y軸方向の角運動量を測るとその大きさは$\pm 1/2$であることが分かっている[7]。よって、**図6**の$\sqrt{2}/2$をx, y軸方向の角運動量と見るのは間違いである。

また、T_2緩和だけでなくT_1緩和（縦緩和）も考えないといけない。T_1緩和では、本当に下のコーンから上のコーンに向かって、あるいはその逆向きにスピンがジャンプするのだろうか？ ジャンプすると仮定すると、そのジャンプの途中経路はどうなっているのだろうか？

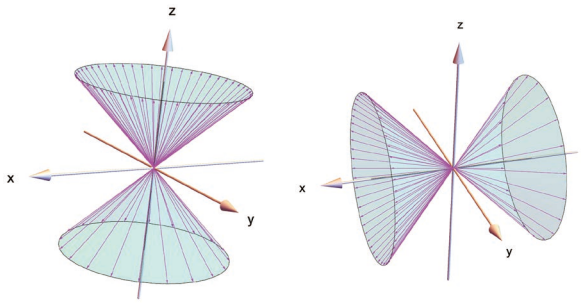


図5　円錐モデルで表したI_z熱平衡状態（左）と90°パルスを打った直後のI_xの様子（図4とは異なる表現）

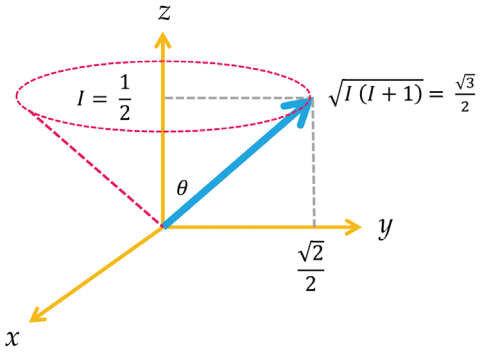


図6　z軸に対してマジック角θだけ傾いたスピン角運動量全体（水色）とその$z, x/y$成分

静磁場に平行・反平行モデル

そもそも上記とは異なる像も教科書に描かれていた。個々のスピンがコーンの表面に沿って歳差運動しているのではなく、静磁場に沿ってスピンベクトルが上向きか下向きに完全に揃っているような図である（**図7**）。前者をαスピン、後者をβスピンと呼ぶ。

ここで、少し量子力学を通してスピンというものを見てみる。簡単のため、スピン量子数1/2の^{1}H, ^{13}C, ^{15}Nを例にとる。この原子核ひとつを静磁場の中に入れると、スピンと静磁場との間のゼーマン（*Zeeman*）相互作用により、エネルギーの低いαスピンか、エネルギーの高いβスピンかのどちらかの状態になるとされている。このαスピンとβスピンを入れ替えるには、両者のエネルギー差に相当する周波数をもつ電磁波を与えるとよい。アインシュタインの$\Delta E=h\nu$の式から、そのエネルギー差ΔEが分かれば、その与えるべき電磁波の周波数νも決まる。ここで、ゼーマンエネルギーは、$-\gamma\hbar B_0 I_z$であることが分

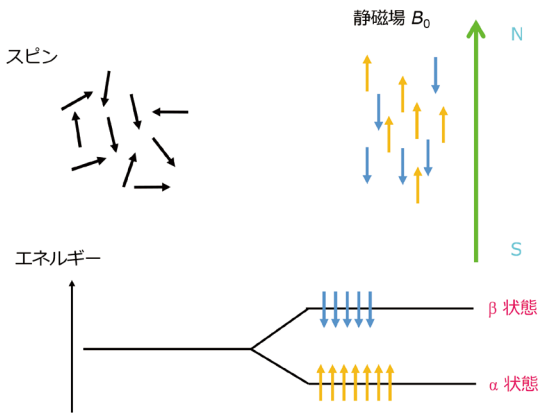


図7　静磁場に対して平行・反平行に配向したスピンベクトル

かっているので、これに α スピンの $I_z=1/2$、β スピンの $I_z=-1/2$ をそれぞれ代入すると、$\Delta E=-\gamma\hbar B_0$ となる。$\omega=-\gamma B_0$ であるので、$\Delta E=\hbar\omega=h\nu$ となる（500 MHz NMR の ^{1}H の場合の ν は500 MHz）。この周波数の電磁波を与えると、いわゆる共鳴がおき、スピンは α 状態から β 状態に遷移し、今度は逆に同じ量のエネルギーを放出しながら β 状態は α 状態に遷移する。しかし、実際にこのようにスピンが 180° 引っくり返るような現象が起きているのだろうか？ そして、NMRはそのようなジャンプを検出しているのだろうか？ 実際にはラーモア歳差運動が、プローブに備えられた検出コイルへの電磁誘導として検出されているはずであるが、そのラーモア歳差運動はどこに消えてしまったのだろうか？

いずれにしても、このようにエネルギー差を算出することがNMRにとっても非常に重要であるので、このスピン状態をエネルギーの固有関数として表現できれば、それぞれの固有状態がエネルギー状態を、そして、その固有値がエネルギー値を与えるので都合がよい。その時の演算子は特別にハミルトニアン $H=-\gamma\hbar B_0 I_z$ と呼ばれる。ここで面白い点は、ハミルトニアンに I_z が含まれていることである。これはスピンの角運動量演算子の z 成分であるが、ゼーマン相互作用にはスピン角運動量のうち静磁場に沿った成分 I_z のみが寄与するので、H には I_z だけが含まれる。したがって、エネルギーの固有状態と I_z の固有状態は一致する。

ここで固有関数という単語が出てきたが、これはしばしば**図8**のような楕円の式やグラフで説明される。**図8**左では x, y 軸が固有状態の基底（座標）となっている。一方、右ではそうはなっていない。両者は同じ楕円を表してはいるものの、固有状態の基底ではない右図では、楕円の式の中に x, y が混合した項が入ってくる。x を $|\alpha>$ 状態、y を $|\beta>$ 状態に置き換えると、**図8**左は、エネルギーの、つまり I_z の固有状態を表していることになる。そして、固有値であるエネルギー値がそれぞれ x, y 軸との切片（楕円の長軸と短軸）から計算できる。一方、**図8**右では、すぐに長軸と短軸の長さを求めることは難しい。求めるには、座標を回転させて左図のようにしなければならない。これを数学的に行うには、行列の対角化などを使う。ここで出てくる固有値がエネルギー値に、固有関数が座標の回転に相当する。

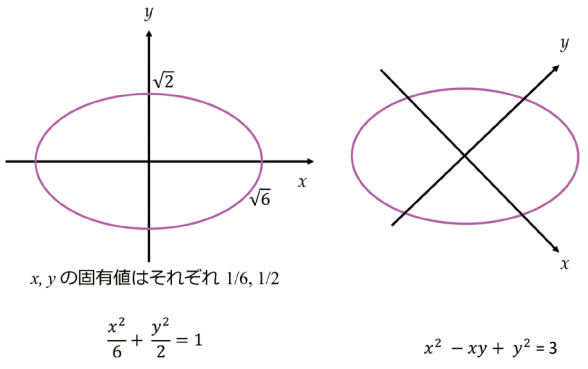


図8　異なる座標（基底）で表した楕円の式

Dynamic nuclear polarization（DNP[8]）の研究ではしばしば、さまざまな方法を使って分極率を上げる、つまり α スピンの β スピンに対する比率を増やす話が出てくる。しかし、本当に静磁場中のスピンは、この $I_z=1/2$ の $|\alpha>$ 状態と $I_z=-1/2$ の $|\beta>$ 状態しかとらないのだろうか？ そして、この数の差だけが感度に直結するのだろうか？ 熱平衡状態の時に、静磁場に対してちょっとだけ傾いているようなスピン、例えば、円錐モデルで出てきたような、z 軸からマジック角だけ傾いたようなスピンは一つもないのだろうか？ 実際には、その重ね合わせの状態 $|\psi>=c_\alpha|\alpha>+c_\beta|\beta>$ もとるらしい。しかし、これを I_z に沿って観測すると、不思議なことに、$|c_\alpha|^2$ の確率で $|\alpha>$ 状態に、$|c_\beta|^2$ の確率で $|\beta>$ 状態に収縮してしまう。量子力学では、初めの状態はいくつかの固有状態の重ね合わせであっても、それを観測してしまうと、ある1つの固有状態に収縮するらしい（コペンハーゲン解釈による波束の収縮）（多世界解釈のように、「α and β 状態」がコヒーレンスを失って「α or β 状態」になるなど、他の解釈も存在する）。よって、スピンを静磁場に沿って観測した際に、上向きか下向きに収縮することから、おそらく**図7**のような極端な向きにスピンベクトルを揃えた描像が生まれたのだろう。ただし、後述するように、多数のスピンの集団を扱うNMRでは、観測してもこの波束の収縮は起きない。

上のように書くと、もともと $|c_\alpha|^2$ の確率で $|\alpha>$ 状態のスピンが存在し、そして、残りのスピンは $|c_\beta|^2=1-|c_\alpha|^2$ の確率で $|\beta>$ 状態にあるものと勘違いしてしまう。それが、全てのスピンベクトルが静磁場に平行か反平行かに並ぶ**図7**のイメージに結びついているのかもしれない。しかし、実際はそうではなく、一つのスピンが $|\alpha>$ 状態と $|\beta>$ 状態の両方を“同時に”とり、観測して初

めて$|c_\alpha|^2 : |c_\beta|^2$の比率でそれぞれの状態に収縮する。常識的に考えると、一つの物が二つ以上の状態を同時にもつことはなさそうに思われるが、量子力学はそうなっていると説いており、物理でそれを学んだ人の中にも、初めは半信半疑ながらも徐々に洗脳されていき、いつしかそれが当然のように知識化してしまっている人が多いようにも思える。

図9は高校物理で習うヤングの実験としてお馴染みである。この二つのスリットに波を通すと二つの波が干渉し合って、後ろの壁には縞模様が見える。今は、電子銃から発射される電子をどんどん少なくし、電子一個ずつを飛ばせるまでになった。一般常識からすると、発射された一個の電子は左右“どちらか”のスリットを通るものと予想される。ところが実験結果によると、後ろの壁に干渉縞ができた[9]。一つの電子が、照射された瞬間は一つの粒子だったかもしれないが、スリットが近づくと左図の本物の波のように振る舞い、二つのスリットを同時にすり抜けたようである。そして、自分自身で干渉してしまっている。ところが、ポラロイドなどを使って、電子がどちらのスリットを通過するのかを覗き見すると干渉縞は消える。このように、スピンも観測するまでは波のように振る舞い、同時に二つ以上の固有状態を重ね合わせてとることができるが、ある一個のスピンを観測するとそのスピンは波動性を失い、粒子性を顕していずれかの状態に収縮する。なお、電子のように小さい粒子であると、これまでの実験結果は上記をすべて支持するのであるが、対象物がどんどん大きくなり、例えば図の「とびねずみ」の大きさになると、これが分身の術を使って波に変身し、二つの隙間を同時に通ることは、きっとないように思われる。実際、とびねずみが波に変身した時の波長は10^{-29}mぐらいであり、スリットの幅に対して小さ過ぎる（原子の大きさが10^{-10}m）。

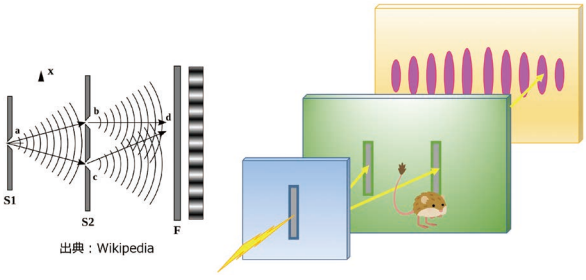


図9　海岸へ打ち寄せる波（左）と照射する光量を減らして1個ずつの光子になるようにしても干渉縞が生じる様子（右）

なかなかイメージとして捉えるのが難しいが、Levittの書籍[7]に分かりやすい記述があったので超訳してみる。

――“たまたま完全な$|\beta>$状態にあるスピンを選び出し、z軸に沿って角運動量を観測すると$-1/2$と返ってくる（厳密には$-\hbar/2$）。しかし、x軸に沿って角運動量を観測すると、$+1/2$あるいは$-1/2$がランダムに返ってくる。スピン自身も答えを知らない。スピンに角運動量のz軸成分を尋ねたら、自信をもって$-1/2$と答えてくる。しかし、x軸成分を尋ねたら「I don't know」と言い、$+1/2$か$-1/2$のどちらかをランダムに返してくる。このような不確定性は人間が理解できることではない。よって、ベクトルモデルは完全に正確とは言い難い。しかし、あのアインシュタインでさえ「神はサイコロを振らない」と言ってなかなか妥協しなかった。次に、たまたま完全な$|x>$状態のスピンを選び出し、x軸に沿って角運動量を観測すると$+1/2$と返ってくる。しかし、z軸に沿って角運動量を観測すると、$+1/2$あるいは$-1/2$がランダムに返ってくる。スピン自身も答えを知らない。スピンに角運動量のx軸成分を尋ねたら、自信をもって$+1/2$と答えてくる。しかし、z軸成分を尋ねたら「I don't know」と言い、$+1/2$か$-1/2$のどちらかをランダムに答えてくる。”――

量子力学にあまり深入りせずにもっと簡単に表現できないのか？

以上をまとめると、マクロな磁化ベクトルは古典力学の範疇で議論しても問題はない。しかし、ことスピンとなると、これは厳密には量子力学でないと説明できないのであるが、磁気共鳴に限っては、古典力学で擬似的に表現しても良いのではないか、と文献には書かれている[4, 5]。その理由にひとつは、磁気共鳴は多数のスピンの集団を扱うため、観測しても波束の収縮が起きないためである。また、歳差運動の式はスピンで計算しても、磁化で計算しても、コマの歳差運動の式によく合致してしまう。しかし、この微視的状態でのベクトルモデルであっても、できるだけ本来の量子力学での描像に近づけるにはどうすれば良いのだろうか？

そこで考案された1スピンのベクトルモデルは

次のように定義されている。ベクトルは、角運動量を観測した時に＋1/2という答が必ず返ってくる向きを表す。ベクトルと直交する方向では1/2か－1/2が返ってくるが、その確率は50% ずつである。±1/2以外の答は返ってこない。**図10**は、ある^{1}H核スピンを表すベクトルを描いている。サンプルの中には多数の分子があるが、その分子の中の同じ位置にある^{1}H核スピンは、同じ化学シフト値をもっている。これらのスピンベクトルの終点をピンクの点で天球上に示した。よって、球の中心から天球上のそれぞれの点までスピンベクトルが伸びている。このベクトルに沿って角運動量を観測すると＋1/2が必ず得られる。

静磁場がない状態では、このスピンベクトルはランダムにさまざまな向きをとっている（**図10**左）。これらのベクトルを合算しても、磁化に相当する巨視的ベクトルは生じない。しかし、静磁場の中に置くと、静磁場と同じ向きを向いたベクトルがほんの少しだけ増える（**図10**右）。それはゼーマン相互作用により、$I_z = 1/2$をもつスピンの方が少しだけ安定なためである。ただし、全てのスピンベクトルが静磁場に沿って平行か反平行の極端な向きに配向するわけではない。いろいろな向きを向いているベクトルを全て足し合わせた時に、ほんの少しだけ＋z成分が大きくなるように、ベクトルの傾きがおよそT_1秒ぐらいかけて＋z方向になびくのである。南半球と北半球でのベクトル終点の密度を比べると、北半球の方が少し多いような散らばり具合である。**図10**はそれでもまだ極端に描いている方で、もし実際の分極率で描いたとすると、10万に1個程度の割合で北半球側が勝つぐらいの微妙さなので、どれほど目の良い人でも分極しているようには見えない。これがNMRが悲劇的に低感度である理由である。しかし、DNPは全てのスピンベクトルをほぼ北極に向かせて、南半球はスカスカ、北半球をバラ色にすることを目指している。

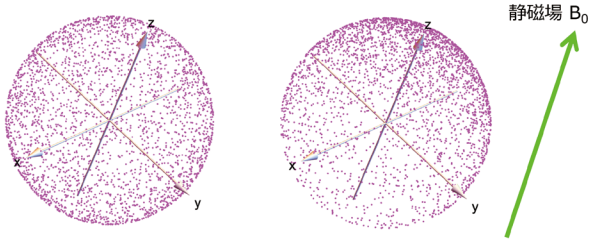


図10　同じ化学シフト値をもつスピン集団を仮定した天球図。本来は分子数に相当する10^{17}個ほどの点を打たないといけない。（左）静磁場がない時、スピンはランダムにあちこちを向いている。（右）静磁場の中では＋z向きの方が少し多くなる。

このモデルをもとに、これまでいろいろな教科書に描かれてきたスピンのイメージをもう一度見直してみよう。まず、スピンを静磁場の中に入れた際に、静磁場に対して平行と反平行に分かれて配向するとされていたが、なぜ方位磁石とは異なり、反対向きのスピンが半分近くもあるのかという疑問に答える必要がなくなる。そもそも、そのように極端な二分極はしていないのである。ただし、シュテルン・ゲルラッハの実験のように、スピンを一個一個観測した場合には、その直後に波束の収縮が起こるので、このようなケースを除く[10]。

この針山のような天球は、パルスを打つ前からすでにz軸周りにラーモア歳差運動をしている。個々のスピンベクトルは静磁場となす角を維持したままであるので、天球全体が回っているように見えるはずである。90° I_yパルスはスピン全体の向きを＋zから一斉に＋xに変える（**図11**）。ただし、スピン同士の相対的な位置関係は変えない。ちょうど天球全体が90°傾いたような状況になる。しかし、それでも元のz軸を軸としてラーモア歳差運動を続ける。このモデルによりI_zとI_xの大きさが異なってしまうという問題は解消された。また、全てのスピンベクトルの合算である巨視的磁化にパルスを当てたと考えた場合と同じ結果になる。

90°パルスを打った直後は、スピンベクトルがなにげなく＋x方向を多く向いている状態にあるが、これがz軸周りにラーモア歳差運動しているうちに、だんだんとx/y平面上に均等に散らばるようになる。これは、個々のスピンのラーモア歳差運動の速さに少しずつ違いが生じるためであり、T_2緩和にあたる。分子がさまざまな方向を向いているため、化学シフトの異方性から生じる局所磁場や周りの^{1}H核スピンとの双極子相互作

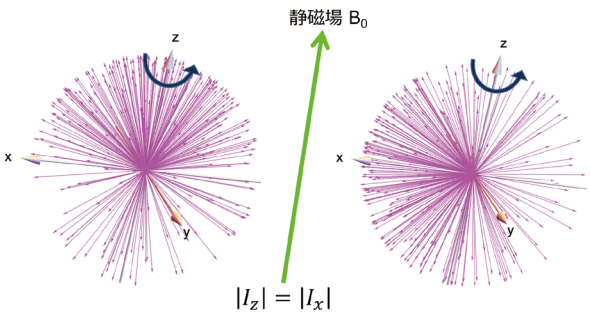


図11　熱平衡状態（左）に90° パルスをy軸が回転軸となるように打った直後の結果（右）

用から生じる局所磁場もさまざまな向きを向いている。そのため個々のスピンが感じる実際の磁場（静磁場＋局所磁場）の大きさも分子のブラウン運動（そのうちの回転拡散）とともに変動してしまう。これがラーモア歳差運動の回転速度に分子によって違いが生じる原因である。

反転回復法で180°パルスを打った時には、天球全体が上下逆さまになったようになると考える（**図12**左）。そして、$-z$向きが勝っていたスピンベクトルの向きが、その後のT_1緩和によりじわじわと$+z$方向に向きを変えていく（**図12**右）。ゼーマン相互作用により$+z$方向の方が少し安定なためである。これらのスピンベクトルを全て合計してみると、ちょうど下向きの巨視的磁化ベクトルが、だんだんと上向きの磁化ベクトルに変化していく様が捉えられるだろう。下向きの円錐上に張り付いていたスピンベクトルが上向きの円錐上に急にジャンプするわけでもなければ、完全に$-z$方向を向いていたβスピンが急に$+z$向きのαスピンにひっくり返るわけでもない。

このように、ここで紹介した1スピンのベクトルモデルは、これまでの筆者の疑問にかなり答えてくれた。もちろん、量子力学で語るべきものをベクトルという古典的なもので無理やり表しているので、不正確な点があることは否めない。例えば、この矢印に直交する方向の角運動量は不定ながらも $\pm 1/2$ として存在するが、それをこの矢印だけで表すことは難しい。

しかし、個々のスピンを観測するのではなく、一般的なNMR, MRI, ESRのように磁化としてスピン全体をまとめて観測するのであれば、個々のスピン状態に収縮は起こらない。もし観測のたびに個々のスピンが固有状態に収縮してしまったとしたら、積算はなかなか難しいであろう。しかし、なぜ個々のスピン状態に収縮が起こらないのだろう？ ここで、たった二つのスピンだけを考えてみる。それぞれのスピンにα状態$|\uparrow\rangle$とβ状態$|\downarrow\rangle$があるので、考えられる組み合わせは$|\uparrow\uparrow\rangle, |\uparrow\downarrow\rangle, |\downarrow\uparrow\rangle, |\downarrow\downarrow\rangle$である。ここで、それぞれのスピンを観測するのでなく、いつものNMRのように、全体（といっても、ここではたった二つだけではあるが）をまとめて観測する。その結果0が得られたとする。$|\uparrow\rangle$と$|\downarrow\rangle$状態の固有値はそれぞれ1/2と$-1/2$であるので、観測値が0ということは、系が$(|\uparrow\downarrow\rangle + |\downarrow\uparrow\rangle)$に収縮したことになる。ここで興味深いことは、観測値0にマッチした状態になるには、個々のスピン状態に対してまで収縮する必要がないということである。ただし、もし1を観測するならば、系が$|\uparrow\uparrow\rangle$に収縮したことになり、これでは、両方のスピンがα状態に収縮したことになってしまう。しかし、実際のNMRでは10^{17}個ほどもスピンがあるので、その全てがα状態となって観測されてしまうような確率は0ではないが事実上無いに等しい。実際には、ある磁化I_xを観測し、それによって全体として系に収縮が起きているのであろうが、10^{17}個のスピンのうち半分が $+1/2$を与え、残りの半分のスピンが$-1/2$を与えるような重ね合わせの状態になっている。そのパターンには天文学的な数のバリエーションがあるだろう。このように、ひとつひとつを観測しない限りは、個々のスピンはαかβ状態には収縮しない。ある一つのスピンの立場から見てみると、集団の中に紛れ込んで自分の個人情報（$+1/2$ or $-1/2$）がばれないのであれば、波の状態をそのまま維持し、スピン各自が必ずしもひとつの固有状態に固まる必要はないのである。このようにスピンに限らず、量子性を示す小さなものは個性がばれない範囲内であれば波のように振る舞う。しかし、どんなにばれないように、たとえ騙してでも覗き見すると、一瞬にして粒子に変化（へんげ）してしまう。FIDは集団を合計した結果としての信号であり、人間がどんなに頑張ってもFIDから個々のスピン状態まではあばけないことをスピン達は知っていて、すると彼らは常に波の状態を楽しむのだろうか。

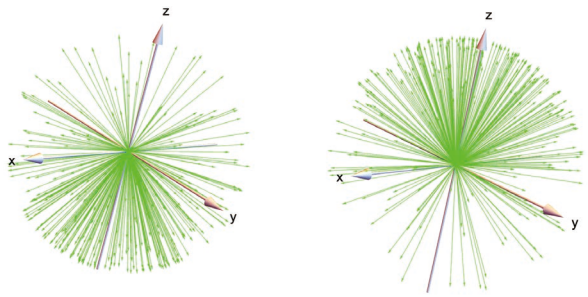


図12　反転回復法により、$-z$方向に反転したスピン（左）が熱平衡状態（右）に回復するT_1緩和の様子

2 量子では何が起こっているのか？

これまでは^{1}Hなどの1つのスピンを考えてきた。例えば、磁化I_xをミクロに見ると、実際にはいろいろな方向を向いたスピンが一杯いるが、総じて$+x$方向を向いているIスピンが少しだけ多い。同様にS_zと言えば、$+z$方向を向いているS

スピンが少しだけ多い。もちろん、x, y方向やあちこちを向いているのも、まずまずいる。それでは、2スピン以上を表す直積（I_xとS_zを行列で表した時に、それの外積にあたる行列）$2I_xS_z$は、どのような意味をもつのだろうか？ しばしば、I_x, S_zなどは磁化と称されるのに対して、$2I_xS_z$となるとコヒーレンスと称される。辞書には「一貫性、干渉性」という意味が載っているだけで、よく理解できない。しかし、これもLevittさんは実にうまく説明している[7]。磁化I_xがあったとする。個々のスピンをひとつずつ観測したとすると、$+x$方向に収縮するスピンが少しだけ多い（**図11**右の天球図のように、スピンベクトルが$+x$方向に偏ってなびいているような状態）。よって、全体としてI_xという磁化が生じ、これが電磁誘導を通して検出コイルに電圧を生じさせる。一方、$2I_xS_z$というコヒーレンスが、例えば核種IからSへの磁化移動のためのINEPTパルス系列によって作られたとする。この場合、磁化I_xとは異なり、$+x$方向を向いているIスピンが特に多いわけではないそうである。しかし、もしIスピンを観測してたまたま$+x$を向いていたら、その時は、隣のSスピンが$+z$を向いている確率が高いだけとのことである。なぜそのような相関が生じるのか？ 同じ$+x$向きのIスピンでも、隣のSスピンがα状態の場合と、β状態の場合とでラーモア歳差運動の速度が異なるためである。そのため$1/(2J)$時間だけ待つと、この二種類がちょうど逆方向になるように分かれる。

こうして考えると、$2I_xS_z$は磁化とは呼ばず、また、電磁誘導を通してIのFIDを生むこともないことが分かる。Sスピンを無視すると、$+x$を向いているIスピンが特に多いわけでもないので、電磁誘導は起こらない。しかし、ちゃんとanti-phaseが観えるではないかと言われそうであるが、それは$2I_xS_z$がJ-couplingを通してどんどんI_yになっていき、そのI_yが観えているためである。その時は、$+y$を向いているIスピンが確かに多いので、磁化が生まれて電磁誘導が生じる。FIDのスタートが$1/(2J)$だけ遅れたようになるので、フーリエ変換すると数学的にanti-phaseに見えてしまうだけである。

さいごに

以上のようなスピンベクトルのモデルを使ってNMR現象を考えると、スピンという訳のわからない本来は量子力学で語るべき対象を、古典物理の描像でかなり説明することができる。しかし、すべてをそれで見てしまうと、何とも味気ない。サンプルにパルスを一発あてて画面上にFIDが現れた時、個々のスピンは量子の重ね合わせ状態を維持している、つまり同時に複数の状態を合わせもっている。さらにもう少し複雑なパルス系列を使って、量子もつれの状態も作ることができる。それが実際に目の前で起こっていると想像するだけで、これまでの単調な「90°パルス長決め（俗称：$p1$決め）」の操作にも、なにかしらのロマンを感じないだろうか？ 少し大げさではあるが、この不思議な自然法則を創造した神にひれ伏してしまいそうになる。

ここに挙げたスピンベクトルの天球は、量子コンピュータの分野ではBloch球（ブロッホ球）として一般的な教科書に描かれており、特に目新しいものではない。また、量子コンピュータとして最初に素因数分解を実現した手段はNMRであった[11]。このようにNMRと量子の結びつきは当然のごとく強く、これは今後のDNPの成功と相まって、より強く意識されていくようになるかもしれない。そのような中で、できるだけ量子の概念を保ちつつ、しかし、それでも簡単なイメージで磁気共鳴を説明する方法はないものだろうかと探した結果、意外にもたくさん文献が見つかった（しかし、実際には30年近くもかかってしまったが…）。そこで、これからNMRを学ぶ人達に是非とも紹介したく筆をとった次第である（実はチュートリアルコースの講演者はこの基礎講座を書く義務があった）。できるだけ理解しやすいようにと思い、学術誌らしからぬ稚拙な表現をあえ

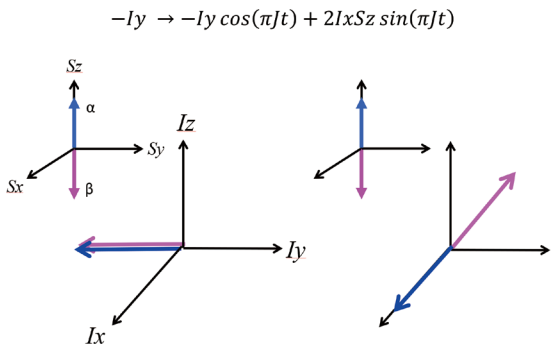


図13 （左）$-I_y$スピンには、Sスピンがα状態のもの（青色）とβ状態のもの（桃色）がある。この初期時点では、$-y$方向を向いたIスピンが多い。（右）$1/(2J)$時間後の様子。Iスピンの回転座標系で表しているため、青色と桃色の磁化ベクトルはお互いに逆方向に$\pm 90°$回っているように見える。

て使った箇所もあるが、なんとかそこは容赦していただきたい。実際にはもっと笑いながら理解できるような例えがいっぱいあるが、さすがにそれは学会誌上では控えておく。

筆者は大学では（失礼ながら）ぞっとするような（虫ではなく）“蟲”のホルマリン漬けを観て模写するような授業ばかりに熱中してしまい、授業では量子はおろか物理っぽい言葉すら聞いたことがなかった（というより教養での単位を落とした）。よって、物理をしっかりと学習した方からいろいろと教わりたいと思っているし、尋ねたいことが山ほどある。これを機会に、あまり難しくなりすぎない？ 範囲内で話が盛り上がればと願ってやまない。

参考文献

［1］ L. de Broglie (1925) Recherche sur la théorie des quanta. *Ann. de Phys*. **3 (10)**: 22-128.
［2］ 荒田洋治（2000）「NMRの書」丸善出版.
［3］ Rabi, I.I., Zacharias, J.R., Millman, S., and Kusch, P. (1938) A new method of measuring nuclear magnetic moment. *Phys. Rev*. **53**, 318.
［4］ Williamson, M.P. (2019) Drawing single NMR spins and understanding relaxation. *Nat. Prod. Commun*. **14 (5)**, 1934578X19849790.
［5］ Hanson, L.G. (2008) Is quantum mechanics necessary for understanding magnetic resonance? *Concepts Magn. Reson*. **32A (5)**, 329-340.
［6］ Keeler, J. (2010) *Understanding NMR Spectroscopy*, 第2版. Chichester, U.K: Wiley.
［7］ Levitt, M.H. (2008) *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*, 第2版. Chichester, England ; Hoboken, NJ: Wiley.
［8］ DNPはDynamic Nuclear Polarizationの略であり、Desiring North Poleの略ではない。
［9］ YouTube「日立 外村彰 二重スリット」などの検索で実験の動画を視ることができる。
［10］ Gerlach, W. and Stern, O. (1922) Der experimentelle Nachweis der Richtungsquantelung im Magnetfeld. *Z. Für Phys*., **9 (1)**, 349-352.
［11］ Vandersypen, L.M.K., Steffen, M., Breyta, G., Yannoni, C.S., Sherwood, M.H. and Chuang. I.L. (2001) Experimental realization of Shor' s quantum factoring algorithm using nuclear magnetic resonance. *Nature* **414**, 883-887.

池上 貴久（いけがみ・たかひさ）

1991年 3月　大阪大学 理学部 生物学科 卒業
1991年 4月　株式会社日立製作所 計測器事業部 入社
1994年 4月　大阪大学 大学院理学研究科 生物化学 修士課程 入学
1996年 4月　奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 教務職員（翌年より）助手
1999年 3月　博士号取得（理学生物化学 大阪大学）
2000年11月　フランクフルト大学（Prof. Griesinger）JSPS海外特別研究員
2001年10月　ゲッティンゲン マックスプランク研究所 同上
2002年 3月　大阪大学 蛋白質研究所 助教授（准教授）
2014年 4月　横浜市立大学 生命医科学研究科 教授 現在に至る

NMR講座：NMR基礎講座

Q値が高いと感度がよくなるのではなく、感度がよいとQ値が高くなるのです

京都大学大学院理学研究科
武田 和行
takeda.kazuyuki.7m@kyoto-u.ac.jp

序

日々NMRを愛でていると、さまざまな疑問が頭に浮かんでは雑事に忙殺されて流れ消えゆくこと川の如し。第61回NMR討論会のチュートリアルコースでは、頭の片隅で流れに揉まれて熟成（腐乱でなければいいのだが…）された妄想の中から、(1) Q値と感度、(2) テンソル、(3) 核のモーメントを取り上げ、お話しさせていただいた。以下はその要約である。

Q値と感度

装置、たとえばNMRプローブ、がhigh-Qである、と聞くと、何か凄そう、性能が良さそうな気がする。クライオプローブのQ値が高くて感度いい、とか。NMR初心者の学生時代、周りの先輩・先生が「プローブのQが何とかかんとか」、と言っているのをしばしば聞いた。「Qが高いと良い」とか「細い電線使って回路を組むとQが下がるから太いのを使え」とか。当時は、Qという記号に魔性のようなものを感じ、不思議な気がしていた。Q値の代わりにもし「A値」(！) とでも命名されていたら印象は違ったかもしれない。現在はQに、それほどマジカルな香りを感じることは無くなってきたように思う。というのも、性能の良いプローブのQ値が高いのは結果であって、Q値が高いこと自体は感度が良くなる直接的な原因ではないこと[1]を学んだからである。

歳差運動する核磁化によって検出コイルに発生する誘導起電力 (electromotive force: emf) の振幅をVとする。Q値がQの (！) 共振回路を組むと、コイルの両端から取り出される電圧の振幅はQVとなる (導出は省略)。ただしここで、だから感度がQ倍になる？ というのは勘違いである。なぜなら、コイルに発生する雑音起電力の振幅もQ倍されるからである。回路は起電力を忠実にQ倍するのみで、どの成分が「信号」の起電力でどの成分が「雑音」の起電力なのかは知る由もない。

ここでいう雑音とは熱雑音、別名Johnson雑音のことである。熱雑音の電力は、コイルの抵抗値と温度に比例する。したがって、雑音を減らすのに必要なのは、抵抗を小さくすることか温度を下げること、あるいは両方ともやることである。通常、意図的に電気抵抗を加えてプローブの回路を組むことはしない。つまり抵抗を下げるということは、回路に残留する抵抗を極力減らすということになる。コイルの材質を伝導率の高い銅とか銀とかにするというのが一つの手であり、また電線を太くして抵抗率を小さくする、というのも理にかなっている。

冷却と断熱に関わる技術的なことはさておき、もし回路の温度を下げることができれば熱雑音が低減する。ついでに抵抗値も下がり、さらに熱雑音が低減する。共振回路のQ値は、ざっくり言って抵抗に反比例する。したがって、雑音を減らすために損失 (抵抗) を減らし、温度を下げた特典としてさらに抵抗値が下がった結果として、回路のQ値が上がる、ということになる。Q値が上がった場合でも、信号電圧はQ倍、雑音電圧もQ倍、ということ自体は変わらない。Q倍されることになる雑音自体が元に比べて低減しているのがポイントである。Q値が高いと感度がいい、というのは原因と結果の取り違えで、感度がいいとQ値が高くなっている、というのが適切である。

テンソルについて

高校生の時、数学ではじめてベクトルと言う言葉を聞いた時、何だこれ？ と思った。こんなカタカナ人生で初めて聞いたぞ、と。そのうちに、矢印みたいに方向と長さを持つ量だな、と納得して慣れ、何の違和感も感じなくなった。そして大学でテンソルと言う言葉を聞いて再び、何だ、このカタカナは！ そして固体NMRを学び始めると、テンソルのオンパレード。そして月日は流れ、慣れたような、慣れないような。

受領日：2023年6月13日　受理日：2023年7月8日　編集委員：西山裕介

最近、物理学者の知人におすすめされたKip Thorneの教科書[2]をパラパラみてたら、冒頭からいきなりテンソルの解説。しかも、目からウロコな斬新な説明であった。Kip Thorneによると、**テンソルとは、関数の一種**らしい。関数も中学生くらいの時、「関（かん）する数（かず）ってなんだ？」と思ったが、よくよく勉強してみると、「箱のようなものを想像してみよう。そこに数値を入れたら、ある規則にしたがって、何か別の数値が箱から出てくるとしよう。このとき、その規則を関数とよぶ」ということで何となく納得。そして、関数としてのテンソルとは：「n個のベクトルを入れたら、ある規則にしたがって数値が出てくる関数を想像してみよう。そして入出力に線形の関係がある、としよう。このとき、この関数をn階のテンソルと呼ぶ」と。斬新。ちょっと感激した。**図1**に、このやり方にならった3階のテンソルの導入例を示す。

その意味で、ベクトルは1階のテンソルである、ということもできる。あるベクトル$\boldsymbol{A}$を考える。何か別の任意のベクトル$\boldsymbol{B}$を受け取って、内積$\boldsymbol{A}\cdot\boldsymbol{B}$を計算してみる。その結果は数である。つまり$\boldsymbol{A}$は任意のベクトル$\boldsymbol{B}$を一つ受け取って数値を返すという、上記の1階のテンソルの定義に当てはまる。

次に2つのベクトル$\boldsymbol{A}$と$\boldsymbol{B}$のそれぞれについて、任意のベクトル$\boldsymbol{C}$と$\boldsymbol{D}$と内積をとって、$\boldsymbol{A}\cdot\boldsymbol{C}$と$\boldsymbol{B}\cdot\boldsymbol{D}$という2つの数を求め、これらを掛け算すると、$(\boldsymbol{A}\cdot\boldsymbol{C})(\boldsymbol{B}\cdot\boldsymbol{D})$という数になる。ベクトル$\boldsymbol{A}$と$\boldsymbol{B}$をひっくるめて考えれば、$\boldsymbol{C}$と$\boldsymbol{D}$という任意の2つのベクトルを受け取って数値$(\boldsymbol{A}\cdot\boldsymbol{C})(\boldsymbol{B}\cdot\boldsymbol{D})$を返す、2階のテンソルとみなしてOK、ということになる。

2階のテンソルはいろんな分野で出てくる。NMRでもテンソルといえば2階のテンソルがほとんどである。化学遮へい（chemical shielding）テンソルも2階である。この場合、受け取る2個のベクトルは、（i）外部磁場と（ii）興味ある方向、となる。つまり、遮へい磁場自体は、外部磁場というベクトルを受けてベクトルを返す関数。また遮へい磁場は、外部磁場に平行とは限らない。どの方向にどれだけ成分を持っているか？興味ある方向のベクトルと内積をとって数値を求めればよい。なお、遮へい磁場によってもたらされる共鳴条件の変化は化学シフトと呼ばれる。

2階のテンソルは（直交座標系では）3×3行列で表現できる。9つの成分をもつ3×3行列を、トレースと対称成分と反対称成分に分離して考えるのが常套手段である。化学シフトテンソルの場合、トレースが等方化学シフト、対称成分が化学シフト異方性に対応する。では残りの反対称成分は？ 化学シフトに寄与しない！ 2階のテンソルで表現できる弾性体の変形の場合、トレースは膨張（あるいは収縮）、対称成分はシアー、反対称成分は回転に対応する。ここで、物体が単に回転するときには変形を伴わない点が示唆に富んでいる。

図1　文献[2]にならった、3階のテンソルの導入。

つまり、物体を全体的に傾けてもストレスは加わらないということである。NMR討論会のチュートリアルではこの点を、変顔🤪に例えて説明した。つまり、変顔が2階のテンソルであると近似的に考えるならば（注：実際は違う）、トレースは形を保って膨らむ（あるいは縮む）効果、対称成分は顔を両手で挟んで逆方向にずらす効果、反対称成分は顔を傾ける効果に対応する。そして顔を傾けることによる変顔の効果はない（**図2**）。

核のモーメント

NMRのメインプレーヤーは、原子核スピンだと習う。原子核スピンの最も重要な属性は、磁気双極子（magnetic dipole）モーメントである。ところが勉強を続けると、スピン量子数1以上の原子核には電気四極子（electric quadrupole）モーメントがあり、四極子核のNMRにとって重要であると学ぶ。そこで疑問：「磁気」共鳴なのに「電気」ってどういうこと？ また逆に、原子核の「電気」双極子モーメントと電場で、核磁気共鳴ならぬ「核電気共鳴」みたいなことはできるのか（注：できません）？ 昔の、分子ビームを使ったNMRの文献には磁気八極子（magnetic octupole）モーメントの存在を示すデータも載っている。さらに電気十六極子（electric hexadecapole）モーメントに関する論文もある。つまり、NMRで重要な原子核のモーメントは、磁気が双極子（$2^1=2$）、八極子（$2^3=8$）、電気が単極子（$2^0=1$）、電気四極子（$2^2=4$）、電気十六極子（$2^4=16$）、らしい。2^kでkが奇数なら磁気、偶数なら電気、というのはどういうことだろう？

原子核の電気的エネルギーは、原子核内部の陽子に起因する正電荷と原子核外部の電子に起因する負電荷の静電相互作用で与えられる。一方、原子核の磁気的エネルギーは、原子核内部の陽子に起因する電流と原子核外部の電子に起因する電流の相互作用で与えられる。両者ともに多重極展開すると、電気的エネルギー・磁気的エネルギーのそれぞれは、以下の成分に分離される：

(a) 電気単極子（電荷, $2^0=1$）と静電ポテンシャルの相互作用
NMRに直接的な影響なし。

(b) 電気双極子モーメント（$2^1=2$）と静電ポテンシャルの1階導関数（電場）の相互作用
相互作用の正味の効果を考えるときに、全座標で積分を実行することになる。だが、被積分関数は奇関数であることが示される。よって、積分はキャンセルしてゼロになるため、この項の寄与はない。したがって、電気双極子モーメントと電場による核電気共鳴はできない。

(c) 電気四極子モーメント（$2^2=4$）と静電ポテンシャルの2階導関数（電場勾配）の相互作用
上と同様、全座標で積分して正味の効果を考

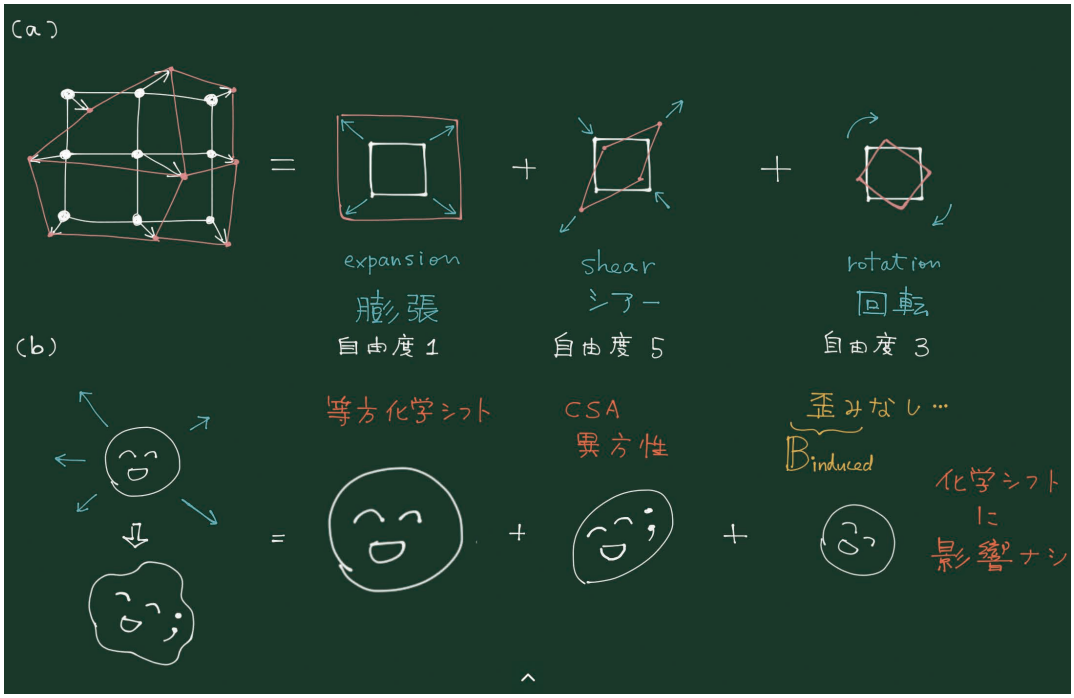


図2 (a) 弾性体の変形は膨張（収縮）・シアー・回転の寄与の総和として表現できる。(b) 変顔による変形を近似的に2階のテンソルとみなした場合の膨張・シアー・回転の寄与。

える。ここで被積分関数は偶関数であり、積分は有限値になる。この項の寄与はある。

(d) 電気八極子モーメントと静電ポテンシャルの3階導関数（電場勾配の勾配）の相互作用
被積分関数は奇関数で積分は消滅。この項の寄与は無い。

(e) 磁気単極子（$2^0=1$）とベクトルポテンシャルの相互作用
磁気単極子は存在が確認されていない？

(f) 磁気双極子モーメント（$2^1=2$）とベクトルポテンシャルの1階導関数（磁場）の相互作用
上の（b）を考えると、積分がキャンセルする!? と思うかもしれない。だが電気と磁気では対称性が逆転する異なることに注意が必要である。電場ベクトルの鏡像は反転する。つまり鏡に映した電場ベクトルは前後が入れ替わる。これを、電場ベクトルは極性（polar）であるという。これに対して磁場ベクトルは軸性（axial）である。磁場がループ電流によって生成すると考え、電流のループを鏡に映してみる。その結果、鏡の世界で生成する磁場は、こちらの世界と同じ方向であって、電場のように反転しない。ここから、対称性による積分の消滅則が電場と磁場で逆転する。磁気双極子モーメントと磁場の相互作用は、消滅しない。磁気双極子モーメントと磁場の相互作用は、Zeeman相互作用とも呼ばれている。

(g) 磁気四極子モーメント（$2^2=4$）とベクトルポテンシャルの2階導関数（磁場勾配）の相互作用
電気の場合は残留するこの積分は磁気では消滅。したがってこの項の寄与は無い。

なお、四極子相互作用を論じるときに、ハミルトニアンの係数（分数）の分母に$I(2I-1)$という項が現れる。ここでIはスピン量子数である。昔からずっと、$I=1/2$ならゼロの割り算だ！ 許されない、どうしよう!? と思っていた。もちろん分母に$2I-1$が現れるのは、$I>1/2$の場合に、という条件付きなので大丈夫なのだが、どうにも気持ち悪く思っていた。白状すれば初学者のときに、導出済みの四極子相互作用ハミルトニアンが与えられて、とりあえず受け入れよう、となって、そのまま長く時が過ぎてしまった。このスッキリしない気持ちは、随分後になって導出そのもの（[3]の第3章、演習問題）を学んで、解消した。

四極子相互作用ハミルトニアンの導出にはウィグナー・エッカルトの定理が使われる。そして$3I^2-I(I+1)$が（分母ではなく）分子に現れる、この時点で、スピン1/2のときはゼロになるので四極子相互作用もゼロ、ということで議論は終了。スピン＞1/2のときには続きがある。四極子相互作用ハミルトニアンを表現するための式変形

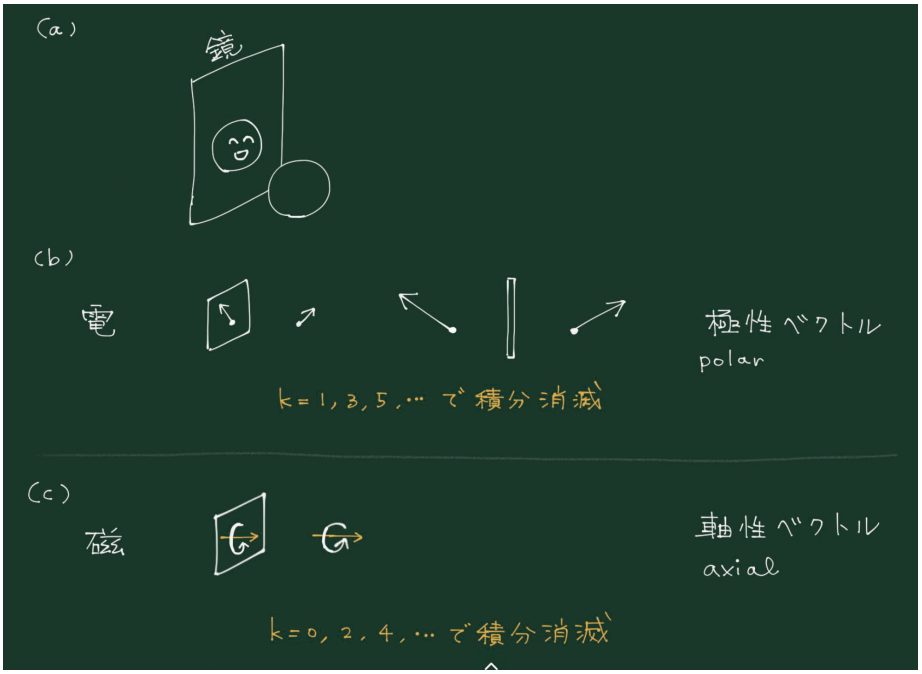


図3 （a）鏡に顔を映した様子。（b）では鏡に電場ベクトルを映してみる。電場ベクトルは極性ベクトルの一例であり、その鏡像は前後が反転する。（c）一方、磁場ベクトルは軸性ベクトルの一種である。磁場が電流のループ（渦）によって生じるとする。ループ電流の鏡像によって生じる磁場は（電場とは異なり）反転しない！

で$I(2I-1)$が移項されて分母に移動する。もはやこの時点で話は完全に$I>1/2$限定となっていて、分母に出てくる$2I-1$に対して$I=1/2$と代入することもあり得ない。ゼロの割り算の心配は無用である。

まとめ

プローブ共振回路のQ値が高くなると、信号はQ倍。雑音もQ倍。よって、Q値のみが上がることによる感度のゲインは無い。回路の熱雑音の二乗平均は温度と抵抗に比例する。したがって抵抗を減らすか、あるいは温度を下げると雑音が減る。すなわち感度が上昇する。しかも、温度を下げると抵抗も減少するため、さらに雑音が減少して感度が上がる。Q値も上昇する。なぜならQ値は抵抗に反比例するため。Q値が高いから感度がいいのではなく、感度を上げた結果としてQ値が高くなる。

n階のテンソルは、n個のベクトルを引数にとって数値を返す線形の関数である。2階のテンソルである化学シフトテンソルは、トレース・対称・反対称成分に分離して考えるのが良い。トレースが等方化学シフト、対称成分が異方性に対応する。反対称成分の寄与は無い。また、弾性体の変形とのアナロジーを考えるのが有用である。

原子核のモーメントで存在するのは電気が1、4、16…極子、磁気が2、8、…極子である。消滅するモーメントは奇関数の積分がゼロになることと関係がある。電場は極性ベクトル、磁場は軸性ベクトルであるために偶奇が逆転する。

おわりに

分野におけるこれまでの蓄積、そして現在なお続く発展を思えば、NMRって学ぶことが多過ぎて、しかも難しいこともたくさんあり、なかなか大変です。第61回NMR討論会にてチュートリアル講師を拝命したこの機会に、自称NMR大好き人間として、自分自身が悩んだことを白状しつつ、楽しく説明を試みました。講師を任命してくれた高知大学の山田さんに感謝。今回は上記の通り、適当に選んだ3つのトピックを中心に解説しました。ネタはまだたくさんあって、身内の学生さんに対しては日常的にレクチャーしています。もしも、NMRの基礎を深く学びたい意欲的な若い方々が国内に多くいれば(hopefully!)、ぜひまたの機会にお目にかかりましょう〜。

なお第61回NMR討論会チュートリアル時に使った資料は、以下のサイトからダウンロードできます：

http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/bun/resources/nmr61-tutorial/tutorial-nmr61-2022.html

参考文献

[1] D.I. Hoult, B. Bhakar, NMR Signal Reception: Virtual Photons and Coherent Spontaneous, *Concepts Magn. Reson.* **9** (1997) 277-297.

[2] K.S. Thorne, R.D. Blandfold, Modern Classical Physics: Optics, Fluids, Plasmas, Elasticity, Relativity, and Statistical Physics, Princeton Univ Pr, 2017.

[3] J.J. Sakurai, Modern Quantum Mechanics, Addison-Wesley, 1993.

武田 和行（たけだ・かずゆき）

1995年 3月　京都大学理学部 卒業
1997年 3月　京都大学大学院理学研究科博士前期課程（修士課程）化学専攻 修了
2000年 3月　京都大学大学院理学研究科博士後期課程（博士課程）研究指導認定退学
2004年 4月　大阪大学大学院基礎工学研究科 COE特任助手
2004年10月　大阪大学大学院基礎工学研究科 助手
2007年 9月　京都大学大学院理学研究科 講師
2015年11月　京都大学大学院理学研究科 准教授

NMR講座：NMR史点描

第二次世界大戦とNMR開発（下）

京都大学
寺尾 武彦
terao@beige.plala.or.jp

前号で述べたように、米国においては戦時研究がNMR開発に大きな役割を果たした。Blochは否応なく習得させられたラジオ波技術がそのままNMRの検出に使えることに気づいた。Hahnの場合もレーダー・ソナーのエコー観察とパルス技術に携わった経験がスピンエコーおよび90°パルスの発見に繋がった。また、Purcellの場合は新たに生じた異分野間の人的交流が大きな意味をもった：Rabiや彼の学生たちとの交流を通じて磁気共鳴に強い興味をもつようになり、PoundとTorreyという優秀な共同研究者に出会うこともできた。さらに、彼はレーダーの実験を通じてNMRのアイデアを生み出すことができた。

アメリカ物理学会が1968年にBlochに対して行ったWeinerによるインタビューの中で、彼は次のように語っている：

…軍事研究に携わった人は、それまであまりよく知らなかった科学分野に触れることになりました。物理学は戦後すぐに急激に発展しましたが、私はその発展の少なくとも一部はこの現象によるものと思っています。私自身は疑いもなく当てはまりますが、他の人たちも同じ経験をしていると確信しています。彼らはあまりにも狭い分野で研究していたのですが、関わろうとはまったく考えもしなかった他の分野に入り込むことを強いられました。彼らはただ戦争のためにそうしたのですが、後にそれが非常に重要であることが分かったのです。

Purcellも同様の発言をしている。米国における戦時研究が戦後の科学を急速に発展させた要因は、様々なバックグラウンドをもつ多数の科学者が同じ場所に集結し、異分野間で継続的な交流が生まれたことと、それまで狭い分野で仕事をしていた科学者がまったく未経験の分野に強制的に関わらせられたことにより新たな知識や技術を獲得したこと、そして戦時研究が非常に有用な遺産を残したことであろう。

重要な遺産の一つが、戦時中のレーダー開発に伴うマイクロ波技術の大幅な進歩である。戦前の電波技術では500 MHz程度までの周波数しか扱えなかったが、終戦時には30 GHzあたりまで扱えるようになった。Rabiは、レーダー開発を牽引したばかりでなく、マイクロ波の研究成果を纏めるプロジェクトを立ち上げ、MIT 放射線研究所叢書（MIT Radiation Laboratory Series、全28巻、1947 ～ 1953）を刊行した。この叢書は、戦後、マイクロ波技術を物理や化学の研究に、あるいは通信やテレビ放送に応用しようとする人たちにとってバイブル的な書物となり、これらの分野の発展に大きく貢献した。

しかし、戦争直後にマイクロ波共鳴の研究で先行したのは、戦時研究で直接マイクロ波技術を身に付けた研究者たちだった。その例をいくつか紹介する。すべてコロンビア大学で、Rabiの学生であったり彼と関係のあった人たちである：

Townes（メーザー、レーザーの発明により、1964年ノーベル賞受賞）はアンモニア分子のマイクロ波（～ 24 GHz）分光を行って、1946年にその反転振動を調べたのち、1954年には誘導放出によるマイクロ波の発信器・増幅器すなわちメーザーを発明した。

Rabiらは、1947年に水素原子の基底状態の超微細分裂（～ 1.4 GHz）を測定し、分裂の大きさがフェルミの公式から計算した値より僅かながら十分有意に大きいことを発見した。また、同年Kusch（異常磁気モーメントの発見により1955年ノーベル賞受賞）らが、ガリウム原子線に共鳴法を適用して電子の磁気モーメントを精密に求めた結果は、1ボーア磁子より0.1％あまり大きかった。さらに、Lamb（ラムシフトの発見により1955年ノーベル賞受賞）らが水素原子ビームの磁気共鳴実験を行ない、ディラックの電子論では縮退しているはずの二つのエネルギー準位 $2^2S_{½}$ と $2^2P_{½}$ が僅かに分裂（～ 1 GHz）していることを発

受領日：2023年7月6日　受理日：2023年7月6日　編集委員：村上美和

見した。これら三つの実験結果は大きな反響を呼び、間もなく、Schwinger、Feynman、朝永らにより、これらの説明を可能にする新たな場の量子論が構築された（この三人は1965年ノーベル賞受賞）。戦前にRabiらが開発した分子線共鳴法が、戦時研究で発達したマイクロ波技術を取り込むことにより、原子の微細構造や超微細構造を精密に測定する強力な手段になり得たことが、このような大きな成果をもたらすことに繋がった。

また、Rabiは戦争末期に、原子線磁気共鳴の共鳴周波数を正確な時計の基準として使うことを提案した。実際にセシウム原子線（共鳴周波数：～9GHz）を用いて原子時計を実現させた一人であるZachariasは、1954年に「原子泉」とよばれる画期的に原子時計の精度を向上させる方法を提案した。Ramsey（ラムゼー共鳴、水素メーザーの開発により、1989年ノーベル賞受賞）も1949年に大幅に精度を改善させるラムゼー共鳴法を開発している。現在、標準時刻を作るのに、原子泉とラムゼー共鳴を取り入れたセシウム原子時計が使われている。

次にヨーロッパの事情を見てみよう：

よく知られているように、アムステルダム大学のGorterは、1942年にNMRの電磁的検出を試みたが失敗に終わった。しかし、以前に本欄で述べたように、私の分析が正しいとすれば、彼は実際には信号を見ていたと考えられ、いろいろ試行錯誤すれば確証が得られた可能性も高かったと思われる。しかし、当時は第二次世界大戦の真っ最中であり、しかもオランダはドイツに占領されていて、きわめて厳しい状況下にあった。次第に実験を行っていたライデンとの間を行き来するのも儘ならなくなった上に、ライデンにスペースも無くなり、Gorterは、1942年4月に“*Negative Result of an Attempt to Observe Nuclear Magnetic Resonance in Solids*”と題する論文を投稿して、NMRの実験の続行を断念した。

他方、大学院で短波の発振器の研究を行ったカザン大学のZavoiskyは、ラジオ波を使って物質の研究をすることに興味を抱いた。彼は物質の電磁波吸収に非常に高感度なグリッド電流法と名付けた検出法を考案し、装置を製作した。Rabiの分子線法に関心を持っていたZavoiskyは凝縮系でNMRを実現したいと考えた。Gorterが熱測定による試みを行なって失敗した情報が少し遅れてカザン大学に届いたが、彼は自分の高感度の装置を使えば、電磁波の吸収信号を検出できると確信していた。水のプロトンのNMRを探すことにしたが、T_1が長すぎるのではないかと心配し、銅塩とマンガン塩の濃厚溶液で実験した。信号の観測にはガルバノメーターを使用した。1941年5～6月に信号が観測できたと思われたが、再現性に乏しかった。この実験は突然余儀なく中止されることになった。1941年6月にドイツ軍のソ連侵攻が始まり、モスクワ、レニングラードの科学アカデミー研究所のメンバーの多くがカザン大学に避難してきて、Zavoiskyの実験室も彼らの住まいになってしまったのだった。それに先駆け、モスクワからやってきた科学アカデミーの委員たちがNMRの実験中にノックもせずに入ってきて、ざっと見渡してここにあるものはすべて手製であり科学的に無価値だと言って、1年半かけて作った装置をゴミのように捨ててしまった。もう2、3ヶ月実験が続けられれば、再現性の問題を解決

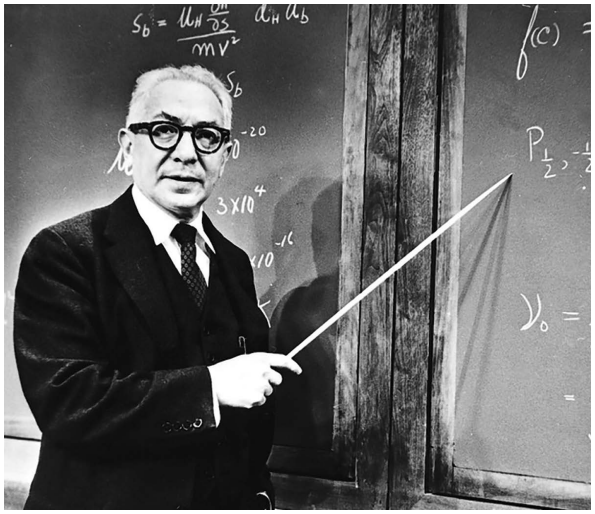


図1　I. I. Rabi（1898～1988）

図2　E. Zavoisky（1907～1976）

してNMRの確実な観測に成功していたかもしれない。

このようにヨーロッパでのNMRの開発は戦争の影響をまともに受けて不幸な結果となった。他方、EPRは戦時中にヨーロッパで誕生し、戦後すぐにヨーロッパで発展を遂げた：

初めてEPRを行ったのはZavoiskyだった。生きるのに必死の生活が続いたあと、1943年になって戦局が好転したため、彼は研究を再開することができた。ただし、今回はNMR ではなくEPRの観測を目指し、1943年末に装置の重要な改良を行った：電磁石に代えてソレノイドコイルを用いて磁場を発生させ、掃引可能にすると共に、小さなコイルを追加し、磁場変調を可能にした。また、周波数可変（0.5 ～ 17 MHz）の発振器を製作し、信号を増幅してオッシロスコープで観測できるようにした。こうして1944年に含水塩化銅、硫酸銅、硫酸マンガンなどでEPR信号の観測に成功した。

英国では、オックスフォード大学クラレンドン研究所のGriffiths、Bleaneyらが戦時研究に動員され、レーダー開発の研究に従事した。Griffithsはその経験を生かし、1946年に磁場中において1 ～ 3 cmの波長で強磁性金属の透磁率を測定した。彼はその中で後にFMR（強磁性共鳴）として知られるようになる現象を発見した。1947年には3 ～ 10 cmの波長を使ってEPR測定を行っている。他方、Bleaneyは1946年よりマイクロ波を使ったアンモニア分子の分光研究を行なったのち、1948年にEPRを使って常磁性塩の性質を研究した。以後のBleaneyのグループのEPR研究の発展は素晴らしく、EPRの基礎は彼らによって確立され、オックスフォードはEPR研究の主要な世界的拠点となった。

最後に、日本の事情については以前の本欄の記事「わが国のNMR事始め」で既に述べたが、ここに簡潔にまとめておきたい：

戦前、大阪帝国大学の菊地正士の研究室では分子線磁気共鳴の研究計画が進んでいて、装置の建設は幾多の困難を乗り越えながら完成に近づいていた。最後の段階で、表面イオン効果を用いる検出器に使うタングステンの細線を作製するため、線引きの工程が必要であった。その際に不純物が混入すると、微弱な分子線の検出には使えないことが分かった。しかし、戦時態勢に切り替わった時代に、特別にコンタミの生じない線引きを依頼することは不可能であった。そのうえ、1941年12月に太平洋戦争が起こり、その後半年ほどで要員の減少、物資の欠乏などが始まったため、このプロジェクトは中止に追い込まれた。この例ばかりでなく、一般に科学研究は、とくに物理学においては軍事研究の影響も大きく、1940 ～ 45年の間ほとんど完全に中断された。

外国文献も経済封鎖のため1941年夏ごろから入手できなくなり、戦時中ももちろんその状況は続いた。 終戦後も今度は連合軍総司令部（GHQ）の占領政策のため、1948年初めまで外国文献は一切入らなかった。こうして6年半にわたり学問的な鎖国状態が続いた。

伊藤順吉（後に大阪大学基礎工学部教授）は大阪帝国大学卒業後、菊池研で戦前より原子核物理学の研究を行い、苦労してサイクロトロンを製作したが、終戦の年の12月にGHQによって破壊され、大阪湾に投棄された。大学卒業後の総ての努力の結集は完全にゼロとなった。伊藤は、研究に必要な物資はおろか、明日の食糧にも事欠く状況の中で、無力感に打ちひしがれていた。そんな中、多分1946年始め頃、菊池研で共にクライストロンを作った渡瀬 譲（後に大阪市立大学学長）との会話の中で、Rabiが分子線で行った磁気共鳴が固体でできないだろうかという話になった。そして強磁性体で電子の磁気共鳴を検出する試みをやってみようということになったが、結局、実行するには至らなかった。伊藤は、その理由を「多分、他に雑用が生じてそれにかまけてしまったからであったろう」あるいは「磁気共鳴の物理的意義をよく検討し、その重要性を認識していなかったことが、敗戦の沈滞状態のもとでも敢えて実験を行う気力を起こし得なかった原因であったろう」と言っている。

1948年1月になって、東京を皮切りに、徐々に全国で学術文献が閲覧できるようになった。伊藤は*Physical Review*誌などを読んで、一時やろうとした強磁性共鳴は既に行われており、さらに凝縮系の磁気共鳴であるNMRとEPRも開発されていることを初めて知った。

伊藤は共同研究者とともにNMRを始めることにした。彼らは菊地研究室に転がっていた鉄材で磁石を作り、これにコイルを手巻きした。電磁石の電源には有り合わせの自動車用の蓄電池を使った。彼らはまもなくNMRとFMRで結果を得て、1949年の10月の物理学会年会で発表している。こ

れがわが国最初のNMR、FMRの報告となった。

以上、アメリカ、ヨーロッパ、日本におけるNMRおよびその周辺分野の開発研究に対する戦争の影響をまとめてみた。やはり、戦場となった国とならなかった国、戦勝国と敗戦国の差は大きい。とくにNMRは本土が戦場にならなかった戦勝国アメリカで誕生した。この有利な条件のもとで、研究者たちが戦時研究で得た新たな知識や技術、あるいは異分野間で深めた人的交流が有効に働き、NMRの誕生へと繋がった。ただ、この新たな経験や交流は戦時における強制力によってもたされたものである。自分の専門とまったく無関係な分野に自分の意思で飛び込むことは、たとえそれが大きな成果を生む可能性があるとしても、なかなかできるものではない。もし我々がまったく不案内な分野を経験することによって、考えもしなかった展開を求めるとすれば、現在の専門分野に軸足を残しながら、できるだけ異なる分野にも関わってみることが現実的であろうか。たとえば、若い人であれば、ポスドクとしての留学先に、今までやってきたことと関連はあるが大きく異なる分野の先生を選ぶとか、一般の研究者であれば、相当離れた分野の先生と共同研究するとか、結果を考えずに未経験の領域を経験してみてはどうだろうか。狭い範囲で仕事をしていると、型にはまった研究に埋没しがちである。異なる分野に真剣に取り組み、新たな視点を獲得すれば、新しい世界が開ける可能性は少なからずありそうに思える。

主な参考文献

［1］寺尾武彦（2021）NMR 史点描：第二次世界大戦とNMR 開発（上）、*Bull. NMR Soc. Japan*, **11**, 50-53.
［2］Interview of Felix Bloch by Charles Weiner on 1968 August 15, Niels Bohr Library & Archives, American Institute of Physics, College Park, MD, USA, https://www.aip.org/history-programs/niels-bohr-library/oral-histories/4510.
［3］Rigden, J. S. (2000) Rabi: Scientist and Citizen, Cambridge, MA and London, Harvard University Press.
［4］寺尾武彦（2013）NMR 史点描：Gorterの失敗（中）、*Bull. NMR Soc. Japan*, **4**, 99-101.
［5］Kochelaev, B. I. and Yablokov, Y. V. (1995) "The Beginning of Paramagnetic Resonance", World Scientific.
［6］廣田 襄（2018）磁気共鳴の開拓者たち（4）Bleaney, AbragamとOxfordグループのEPRへの貢献，電子スピンサイエンス, **31**, 121-124.
［7］Griffiths, J. H. E. (1946) Anomalous High-frequency Resistance of Ferromagnetic Metals, *Nature*, **158**, 670-671.
［8］寺尾武彦（2017）NMR 史点描：わが国のNMR事始め、*Bull. NMR Soc. Japan*, **8**, 79-83.

図の出典

図1 https://orologi.forumfree.it/?t=74506746
図2 https://eng.kpfu.ru/bez-rubriki/scientific-regiment-yevgeny-zavoisky-discovers-electronparamagnetic-resonance/

寺尾 武彦（てらお・たけひこ）
1966年、京都大学理学部物理学科卒業。1973年、京都大学理学博士。1975年、京都大学理学部（化学科）講師。同助教授、同教授を経て、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。2008年、ISMAR Fellow。2011年、日本核磁気共鳴学会名誉会員。2022 年、瑞宝中綬章受章。

2022年度学会顕彰：進歩賞

「進歩賞」について

当学会は2020年度に、「若手研究者を顕彰することによって、人材育成を通じてNMR分野の発展に資すること」を目的とする「進歩賞」を創設しました。本賞の対象者は「NMRに関する研究成果が特に優れ、将来性が十分期待される45歳未満の本会一般会員」となっています。

2022年度選考の経緯

理事会で推挙された5名の委員と各賞担当理事からなる選考委員会を設立いたしました。続いて、応募書類をもとに、各審査員が過去2年間の審査形式にならって10点満点で絶対評価を行いました。その際の点数の基準は、10点（非常に優秀）／8点（優秀）／6点（標準）／4点（やや力不足）／2点（力不足）としました。各審査員にはコメントも付していただきました。

選考委員会審査員（五十音順、敬称略）

浅野敦志（防衛大学校）
高橋栄夫（横浜市立大学）
村上美和（京都大学）
三島正規（東京薬科大学）
若松　馨（群馬大学）

各審査員の審査結果を得て、2022年6月21日、審査員全員および伊藤　隆理事（各賞担当理事、選考委員会委員長）、竹内　恒理事（各賞担当理事、オブザーバ）、藤原敏道会長（オブザーバ）で選考委員会（オンライン）を開き、さらに詳しく総合的に議論しました。その結果、選考委員会は2022年度（第三回目）の受賞候補者として2名の方を選出し、理事会に報告しました。

その後理事会での承認を経て下記の2名の受賞者が決定されました。選考結果は8/22のニュースレターにて本会員全員に配信されました。本当におめでとうございました。

（順不同）
上田卓見 氏（Takumi UEDA）、東京大学
森本大智 氏（Daichi MORIMOTO）、京都大学

上記の受賞者にはNMR討論会（高知）にて受賞講演を行っていただきました。さらに、会期中の表彰式にて、表彰状および後援企業の「日本電子株式会社」「ブルカージャパン株式会社」からのご厚志の報奨金と盾の副賞が贈られました（**写真**）。

進歩賞授与規定の詳細につきましては、HPをご覧ください。

写真　左から　伊藤隆理事、藤原敏道学会長、上田卓見、森本大智、末松浩人（*1）、八島秀仁（*2）、竹内恒理事
*1　日本電子株式会社NM事業ユニット長
*2　ブルカージャパン株式会社バイオスピン事業部長

選考委員代表：伊藤隆・竹内恒

会員便り：研究室便り

徳島大学 先端酵素学研究所 齋尾研究室

徳島大学 先端酵素学研究所 分子生命科学分野
川越 聡一郎
kawagoe@tokushima-u.ac.jp

今年度より徳島大学先端酵素学研究所の分子生命科学分野に助教として着任した、川越聡一郎と申します。この度は、私が所属する齋尾研究室を紹介する機会をいただきありがとうございます。この場をお借りして、関係者の方々に感謝申し上げます。

齋尾研究室の歴史

分子生命科学分野は、北海道大学の石森浩一郎先生の研究室で助教をされていた齋尾智英先生の異動に伴い、2020年9月、徳島大学先端酵素学研究所に新設されました。私も当時石森研究室に所属しており、4月中旬、齋尾助教に呼び出され、「徳島に行きませんか。」と提案されたことを覚えています。それに対して、学会か講習会があるのかな？ と思い、二つ返事で「はい。」と答えましたが、教授として異動することを伝えられたのはその後でした。

研究室新設時の人員は齋尾教授と私の2名のみでしたが、その後助教として松崎元紀さん、研究員として熊代宗弘さん（学振PD）と服部良一さん、大学院生には石森研究室から委託研究学生として参画している川向ほの香さん（学振DC1）、さらに技術補佐員5名と、学部生5名が加わり、この3年弱で16人まで規模を拡大できています。当研究室は研究所所属のため、学部生が毎年定期的に配属されるわけではありませんが、医学科3年次の10ヶ月にわたる医学研究実習や、希望した研究室での活動に1年次から参加できるStudent Labの制度を利用し、学部生も当研究室に参画してくれています。また、医学科4年と5年の間に3年間のPh.D.コースに進学し医学博士（PhD）を取得するMD-PhDコースの制度も整えられており、人数自体は少ないものの、意欲的な学生たちが研究室に活気を与えてくれています。スタッフ側としては、基礎研究の素養を持つ臨床医の教育とともに、医学の見識をバックグラウンドにして基礎研究を進めていく研究者を輩出していきたいと考えています。

写真1　NMRの前での集合写真。中列右から2番目が筆者。後列真ん中が齋尾教授。

人員とともに設備も徐々に充実してきました。NMRはBruker Avance Ⅲ 500 MHzを導入し、高速タンパク質液体クロマトグラフィー、SEC-MALS、One-W、蛍光ストップトフローや種々の分光計などを設置しています。さらに、学内共用機器のITC、円二色性分散計（CD）、共焦点顕微鏡などを利用して研究を進めています。また、学内の藤井節朗記念医科学センターには、整備されたオープンラボスペースがあります。そのため、徳島大学への異動直後から、レンタルラボで実験をしながら、研究室のセットアップを行うことができ、研究活動をストップさせることなく、スムーズにラボを立ち上げられました。

学外施設も積極的に利用しており、特に北海道大学先端NMRファシリティおよび大阪大学 蛋白質研究所の高磁場NMR装置、高エネルギー加速器研究機構のSAXS、cryo-EM、広島大学の放射光CDや分子科学研究所のESRなどを活用して研究を進めています。特に、北大のNMR装置はリモートで測定のセットアップが可能であるだけでなく、管

受領日：2023年6月17日　受理日：2023年7月21日　編集委員：鳥澤拓也

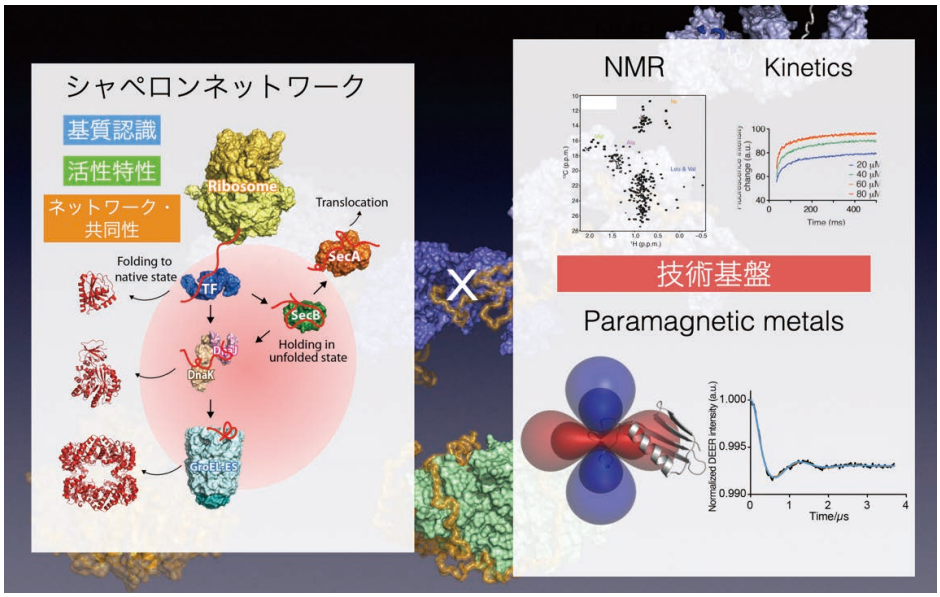


写真2　齋尾研究室の研究内容

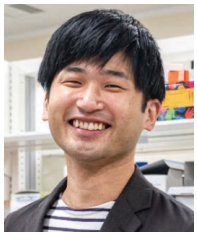
理者の久米田博之先生からの技術的・学術的なサポートを受けられる点が魅力だと感じています。

研究内容

齋尾研究室では、細胞内タンパク質の恒常性を管理する分子シャペロンやストレス応答のシステムについて、その分子メカニズムの解明を目指しています。具体的には、シャペロンの複合体形成、ストレスセンサーの多量体化、天然変性タンパク質の液–液相分離といった弱く動的で巨大な会合体形成を対象としたプロジェクトが複数走っています。そのような動的タンパク質複合体の仕組みを解明するため、NMRだけでなく、速度論解析、アミノ酸選択標識、常磁性ランタノイドイオン、ESRやSAXSなど他の手法を組み合わせた構造解析法の開発に取り組んでおり、最近では、複合体構造をもとにした相分離操作ツールの設計にも着手しています。立体構造決定を目標とした研究ではなく、生命現象・生命システムを理解し、それを制御するための構造生物学研究を推進したいという思いから、当研究室の名称は「構造」というワードはあえて含めていない、「分子生命科学分野」と齋尾教授によって命名されています。独自に構築した動的構造解析法によって、タンパク質の動態を実際に見たように説明するだけでなく、タンパク質、ひいては生命現象の自在な操作をゆくゆくは実現させたいものです。

まとめ

当研究室の特色として、共同研究の多さが挙げられます。生命システムを理解するためには多角的な解析が不可欠であるため、外部施設や、様々な専門性を持つ共同研究者の方の協力を受けながら研究を進めています。それと同時に、外部機関からの研究者・学生の受け入れも積極的に行なっており、その際には実験だけでなく、徳島のグルメも堪能してもらうようにしています。徳島は決して都会ではありませんが、川と山に囲まれた穏やかな環境は、集中して研究をするにはもってこいです。この徳島の地から魅力的なサイエンスを発信できるよう、研究室メンバー、共同研究の方々一丸となって研究に邁進していきます。



川越 聡一郎（かわごえ・そういちろう）
2016年 3月　北海道大学 理学部 化学科 卒業
2016年 4月　北海道大学大学院総合化学院 総合化学専攻修士課程 入学
2018年 4月　塩野義製薬株式会社 創薬化学研究所 入社
2020年 3月　同上 退社
2020年 4月　北海道大学大学院総合化学院 総合化学専攻博士後期課程 入学
2023年 3月　博士号取得（理学 北海道大学）
2023年 4月　徳島大学 先端酵素学研究所 助教 現在に至る

会員便り：研究室便り

理化学研究所（和光地区）における分子構造解析ユニットの紹介

国立研究開発法人理化学研究所 環境資源科学研究センター 分子構造解析ユニット
越野 広雪
koshino@riken.jp

1. はじめに

現在の分子構造解析ユニットのルーツは特殊法人の理化学研究所において1988年に研究支援部門として機器工作系と分析解析系からなる研究基盤技術部に分子構造解析室が立ち上げられたことに始まる。筆者は1992年にNMR、質量分析、X線結晶構造解析の3つに関する研究支援を担当していた分子構造解析室に研究員として採用され、主にNMRを担当することになり、2000年には前任の鵜澤洵室長から分子構造解析室の運営を引き継ぐことになった。当時の担当者はNMRが3名、質量分析1名、X線結晶構造解析が2名であった。その後は理化学研究所も独立行政法人、国立研究開発法人と変遷する中、研究支援部門も何度も改組があったが、途中X線結晶構造解析が分かれ、そちらは現在は創発物性科学研究センターの物質評価支援チームに引き継がれている。分子構造解析室のNMRと質量分析の研究支援は2015年からは環境資源科学研究センターの分子構造解析ユニットにて継続されている。2023年度の時点で室員はNMR担当が2名、質量分析が3名、その他分光学と計算化学を専門とし機能性分子の設計と合成を行う研究者と天然有機化合物などの有機合成化学を専門とする研究者が各1名、大学から外研で来ている研修生などとアシスタントで構成されている。環境資源科学研究センターは2013年に植物科学、触媒化学、ケミカルバイオロジーの分野が融合してできた戦略センターの一つで、拠点を横浜と和光の両方に持っている。環境資源科学研究センターは現中期計画においては、革新的植物バイオ、共生・環境ソリューションズ、代謝ゲノムエンジニアリング、先進機能触媒エンジニアリング、新機能性ポリマー、先端技術プラットフォームの6つのプロジェクトを推進している。当ユニットは先端技術プラットフォームに参画し、センター内に留まらず、理化学研究所の有機化合物の構造解析に関連する研究支援業務をNMRと質量分析を中心に行ない、同時に関連する分野の研究開発や所内外との共同研究を積極的に推進している[1]。

2. 装置の紹介

溶液NMRでは日本電子製のECZ600を依頼測定と解析、共同研究などに利用している。通常はSuperCOOLプローブを用いて運用している。依頼測定と解析の対象は様々で、筆者が得意とす

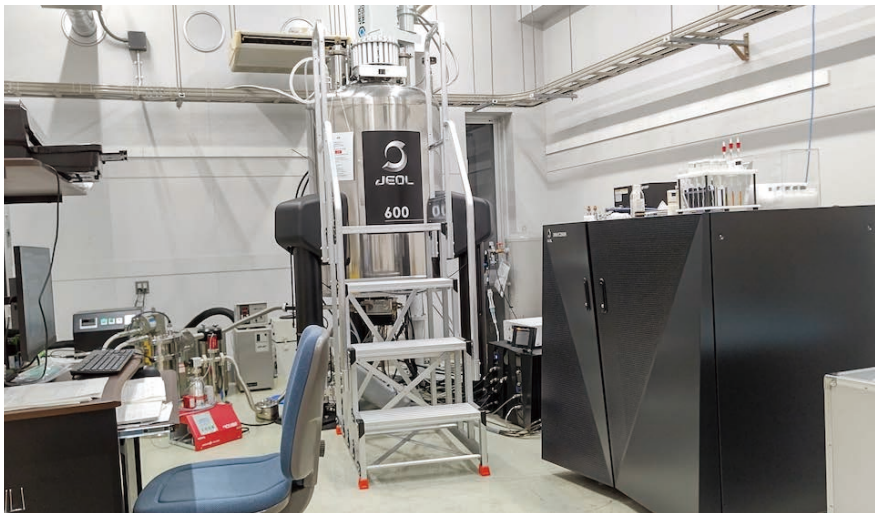


図1　ECZ600型NMR装置

受領日：2023年7月31日　受理日：2023年8月2日　編集委員：福士江里

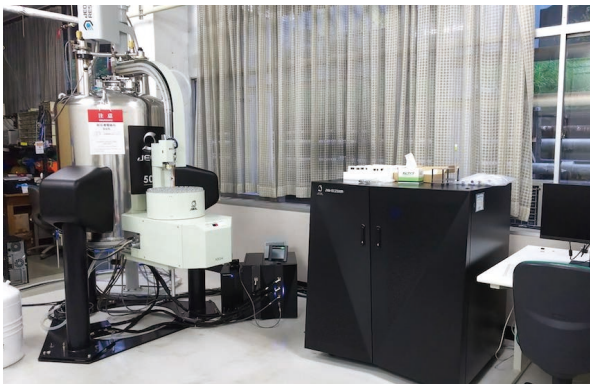


図2　ECZ500型NMR装置

図3　Cyclic IMS質量分析装置

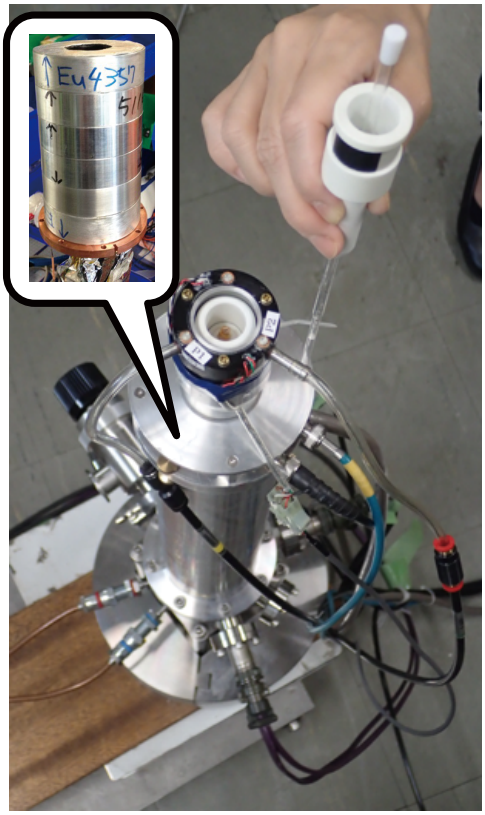


図4　開発中のバルク高温超伝導NMR装置

る天然有機化合物の構造解析から、糖鎖、機能性物質、合成中間体、有機金属錯体、合成高分子など多彩である。タンパク質などの生体高分子は理研で高磁場の装置が充実している横浜のNMR施設の利用を勧めている。ECZ600の分光計は3ch仕様でHCXプローブがあるので、^{1}H-^{13}C-^{31}P、^{1}H-^{13}C-^{29}Si、^{1}H-^{13}C-^{77}Seなどの3重共鳴の測定に対応可能である。希少なプローブとしては、5mmの低周波核用でPFGに対応したプローブを持っている。こちらは導入当初は、^{1}H-^{89}Yの相関から有機金属錯体の解析に利用していたが、最近では^{183}Wの^{1}H観測によるHMBCなどの高感度検出に利用している。^{1}H-^{19}F-Xの3重共鳴の測定には通常はオープンアクセスで運用しているECZ500とECZ400が該当する3ch仕様で対応しているので、それらの装置で依頼測定にも対応している。その他少し古い装置になるが溶液NMRではECA500とV500をオープンアクセスで利用してもらっている。なおNMRの測定室は様々な経緯から著者の居室とは異なる3箇所の建物に分散している。

固体NMRの依頼測定にも対応しているが、和光地区の現存装置はCMX400でかなり老朽化しているため、対応できることに限りがあり、和光地区にてユーザーから試料を預かり、固体NMRの担当者である仲村高志技師（特別嘱託）が兼務している横浜の方でECZ400を利用させてもらって研究支援に利用している。その他、マイクロイメージング用にWB 500MHzのSCMにMRTechnology社の分光計を組み合わせた装置がある。

質量分析装置はWaters社製のCyclic IMSを昨年度末に導入し、イオンモビリィティーによる異性体の分離とMS/MSによる構造解析への利用などが期待される。その他少し古くなったがLC/MS/MSに利用しているWaters社製のSYNAPT G2とGC/MSに利用している日本電子製の飛行時間型のJMS-T100GCVなどを共同利用機器として運用し依頼分析を含む研究支援に対応している。

その他、円二色性分散計（CD）として日本分光製のJ-1500を共同利用機器として管理している。当ユニットの管理する機器は共同利用機器として理研に所属する全ての研究員等が利用できるシステムとなっている。

3. 研究開発その他

ユニットの方針として、スタッフには研究支援

は必須だが、自由に研究開発の課題設定をしてもらっている。NMR担当の仲村高志技師は20年来の課題としてバルク高温超伝導体を用いたNMR/MRI装置の開発を行なっている[2]。最近実用化レベルの高分解能な^{1}H NMRスペクトルが取得できるようになった。著者はNMRを用いた天然有機化合物などの有機化合物の構造解析を専門としているが、研究開発としては立体化学を考慮して^{13}C NMR化学シフト値を予測する機能とシフト値から部分構造を検索し構造推定する機能を有するCAST/CNMRシステムの開発に共同研究として携わってきた[3]。CAST/CNMRに登録するデータは厳密に評価した上でデータベースに登録しているが、その過程で文献にて報告される構造決定やNMRの帰属に多くの間違いがあることを明らかにしてきた。そのため最近は構造訂正研究に興味を持ってNMRデータを見る習慣になってしまっている。構造訂正研究に関連する話題の詳細は解説などを参照していただければ幸いである[4,5]。

その他、コロナ禍で3年間中断していたが毎年、理研シンポジウム「分子構造解析：MSとNMRの基礎と実践」と理研シンポジウム「分析・解析技術と化学の最先端」をそれぞれ6月と12月に開催している。退職するまでは継続予定だが、あと何年できるか？ いやそれ以上に現在のNMRによる研究支援業務に後継担当者が不在だという現実がある。まだ公募はされていないが、興味ある方は是非ご連絡頂きたい。

参考文献等

［1］ http://www2.riken.jp/mct/index.html
［2］ https://www.riken.jp/pr/closeup/2022/20220303_1/index.html
［3］ https://www.jeol.co.jp/products/scientific/nmr_software/CAST_C.html
［4］ 越野広雪, “構造訂正された化合物の構造解析に学ぶ”, *日本核磁気共鳴学会機関*, 2018, **9**, 8-15.
［5］ 越野広雪, “NMRによる正しい構造解析に必要な知識と心掛け”, *ぶんせき*, 2023, **3**, 88-95.

越野 広雪（こしの・ひろゆき）

1985年　北海道大学農学部農芸化学科卒業
1990年　北海道大学大学院農学研究科博士課程修了
1990年　理化学研究所・基礎科学特別研究員
1992年　理化学研究所・分子構造解析室・研究員
2000年　理化学研究所・分子構造解析室・室長
2003年　独立行政法人理化学研究所・物質構造解析チーム・チームリーダー
（この間、改組で所属名称は数回変更）
2015年　国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・
技術基盤部門・分子構造解析ユニット・ユニットリーダー
現在に至る

会員便り：研究室便り

東京薬科大学薬学部 分子生物物理学教室

東京薬科大学薬学部 分子生物物理学教室
三島 正規、青山 洋史、武田 光広、永江 峰幸
mmisima@toyaku.ac.jp

1. はじめに

東京薬科大学は、1880年（明治13年）に創設された日本初の薬剤師教育機関である東京薬舗学校を前身としており、140年以上の歴史を重ねる日本最古の私立の薬科大学です。1976年に八王子市へキャンパスを移転し、1994年には生命科学部が開設され現在に至ります。キャンパスは平山城址公園に隣接し、周りは森に囲まれ、しばしばウサギ等の野生動物が出没するほど自然に恵まれています（**図1**）。また薬用植物園は私立薬科大としては最大の広さを有し、無料で一般に公開されていることから、地元の皆様に、見学や散策等で親しまれています。2023年度は、薬学部2,700名、生命科学部943名の学生が在籍し、薬学部・生命科学部合わせて計66の教室/研究室が、基礎から臨床まで多岐にわたる教育、研究を推進しています。これまでに薬学・生命科学に関わる多様な人材を輩出し、4万人を超える卒業生が各界で活躍しています。また近年、高大連携を年々増加させており現在13校の理科担当教員と連携し、高校生の理科教育にも貢献しています。

薬学部、分子生物物理学教室は2021年に三島が着任し、立ち上げた教室です。「分子生物物理学」は、分子の振る舞いの観点から生命を理解する学問分野であるMolecular Biophysicsの訳です。これから推進していく課題である、構造生物学、分光学・イメージング技術の開発、そしてこれらのためのケミカルバイオロジー的な手法の開発等を包括する学問分野としてMolecular Biophysicsが最も相応しいと考えました。6年制の薬学部において、臨床教育の割合が年々増していく中で、基盤となるサイエンスを担い、基礎と臨床の両輪のうち、基礎の部分の一端を、責任をもって担当する心構えも込められています。2022年度からは永江、2023年度からは武田が加わりました。旧分子機能解析学教室からのスタッフである青山も含め計4人の体制です。

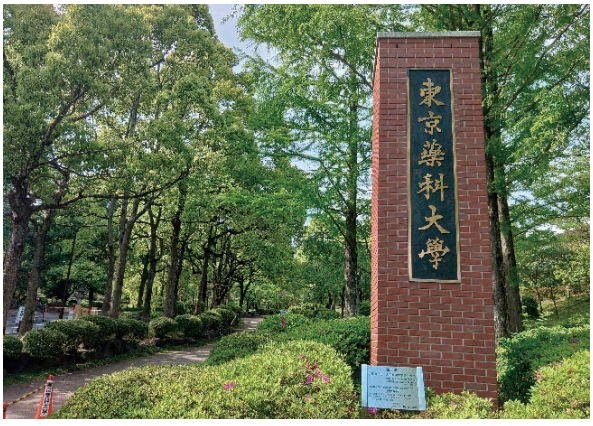


図1　東京薬科大学、正門

2. 東京薬科大学における NMR 設備等

東京薬科大学には、中央分析センターが設置されており、担当教員の深谷晴彦助手と技術職員1名が共通機器を管理しています。2022年度からは三島がセンター長を務めています。中央分析センター内には2台のNMR、600 MHz（JEOL JNM-ECZ 600R）、500 MHz（Bruker AVANCE Ⅲ HD 500）が稼働しています（**図2**）。

これらNMRの他にも、質量分析装置ESI-QTOF（日本ウォーターズ　XEVO g2-XS）、質量分析装置MALDI-TOF（Bruker autoflex Max）、次世代シーケンサー（イルミナ　NextSeq 2000）、元素分析（Elementar Vrio EL）、単結晶X線構造解析装置（リガク　XtaLAB Synergy-R）が稼働しており、学内・学外の研究試料に関して、主に分子構造の解析に大きく貢献しています。

また薬学部の共通機器として400 MHzのNMR（Bruker AVANCE Ⅲ、Bruker AVANCE Ⅲ HD、計2台）が稼働しています。中央分析センターを含め、これらの装置は、有機化学、天然物化学、生化学の研究において重宝されていますが、私たち分子生物物理学教室が目指すタンパク質のNMR研究にとっては、検出感度、使用できるチャネル数の観点から、十分とはいえません。そ

受領日：2023年6月22日　受理日：2023年8月6日　編集委員：菊地淳

のため、東京都立大学の伊藤隆先生の研究室、横浜の理化学研究所および大阪大学の蛋白質研究所の高磁場NMR装置を利用させて頂いています。また株式会社クライオシップと、同社の神野智司さんにもNMR利用ではお世話になっております。今後、学生さんにも最先端のNMR測定に直接取り組んでもらい、将来を担う若手NMR研究者を育成する観点からも、東京薬科大学にも生体高分子用の高磁場NMR装置を導入する必要があると考えています。

3. 研究活動

分子生物物理学教室は、教員4名（三島、青山、武田、永江）と学部学生8名が在籍しています。各教員の専門・得意とする手法は、それぞれ、NMR法、有機合成、NMR法、X線結晶構造解析と異なりますが、連携して研究テーマに取り組んでいます。大学のリニューアル工事にともない、研究スペースは、最も歴史のある（古びた）研究1号館から、2022年度の後半にリニューアル工事済みの研究2号館へと移りました。これに伴い新たに、結晶化室、細胞培養のためのスペースを確保し、また移転前同様、分子生物学・生化学実験や有機合成に必要な装置を設置し、一連の体制を確立しています（**図3**）。

図2　中央分析センターに設置されたJEOL JNM-ECZ 600R、Bruker AVANCE Ⅲ HD 500。

学生配属の際の説明では、「分子生物物理学教室は、分子レベルで生命現象を理解し、薬の働きを理解する、また薬の候補等の合成を行う実験系の研究室である」と説明しています。最新の多次元NMR 法とX線結晶構造解析法を利用して、創薬標的となるタンパク質の立体構造を多面的に解析し、それらを標的とした薬剤候補化合物をデザインし、さらに合成や評価も行う、この流れを1つの大きなテーマとして掲げています。また、基礎科学を担う教室として、基礎の研究テーマにも力を入れており、その中でも特に最近、注力して研究しているのが、光センサータンパク質の構造生物学的解析です。RcaEは、シアノバクテリアの光センサータンパク質で緑色/赤色光照射によりその構造が変化します。この際、発色団であるフィコシアノビリンの脱プロトン化が極大吸収波長制御に重要であり、実際にプロトン化状態の変化が起こっていることをX線結晶構造解析とNMR法を利用して明らかにしています[1, 2]。さらにRcaEタンパク質中にある発色団フィコシアノビリンのNMR信号を完全に帰属することができれば、フィコシアノビリンの電子状態を理解するうえで有力な情報となり、極大吸収波長の制御の理解が進むはずです。しかし、均一標識を施したRcaE試料を用いたNMRスペクトルから帰属を行うことは、信号の複雑さから困難でした。そこで青山が、フィコシアノビリンの代謝における前駆体である5-アミノレブリン酸の^{15}Nかつ^{13}C選択的標識体をグリシンから合成し[3]、武田はその^{15}Nかつ^{13}C選択的標識5-アミノレブリン酸を

図3　分子生物物理学教室の実験室の一部。
低温チャンバーに設置されたクロマトシステム、大型のソニケーター、大型高速冷却遠心機、大型超遠心機、オートクレーブ等が並ぶ。大型の振とう培養装置3台もこの部屋の左手奥で稼働。結晶化室が左隣、有機合成の部屋が右隣にあり、別途、学生の居室が存在する。

タンパク質発現（培養）に用いることで、異なるパターンの^{15}N均一標識かつ^{13}C選択標識のフィコシアノビリンをもったRcaE標識体の調製を行いました。これらを用いた各種NMR測定を行い、フィコシアノビリンの帰属がほぼ完了している状況です（**図4**）。RcaEタンパク質内でのフィコシアノビリン周辺の環境は、永江によるX線結晶構造解析から、緑色光吸収型と赤色光吸収型で大きく異なることも明らかになっており、ここにフィコシアノビリンのプロトン化状態の変化をもたらす鍵の1つがありそうです。こういった光センサータンパク質の理解と応用は、将来、遺伝子発現やシグナル伝達を非侵襲的かつ自由に制御する技術として有用であると期待しています。

5. 今後の展望

薬学部の4年制から6年制への移行にともない、企業での活躍や、企業・アカデミアでの研究志向の学生は少なくなり、地域の薬局等での活躍を希望する学生が多くなってきています。薬剤師養成のためのタイトなカリキュラムの中、4～6年生の学部の段階で研究に取り組む時間が（そもそも時間割の上で）少ない点が課題ですが、薬剤師としての就職状況は良好で、毎年多くの薬剤師を輩出しています。一方で、このような状況の中、本学薬学研究科では博士課程の定員の充足率が100％を超える状況が続いており、大学院生が研究活動を盛り立てている点が特徴です。開設したばかりの当教室では博士課程の学生さんは未だ誕生しておりませんが、他の基礎の教室では、研究に没頭する大学院生の姿が見られます。大学人にとって、研究を通して学生に研究・学問の楽しさを伝え、将来の研究を支える研究者、すなわち後継者を育成することは、大切なことだと考えています。分子生物物理学教室はスタートしたばかりで、試行錯誤を繰り返しながら日々過ごしておりますが、今後、NMRを軸とした分子生物物理学研究を発信、人材を育成していく所存です。

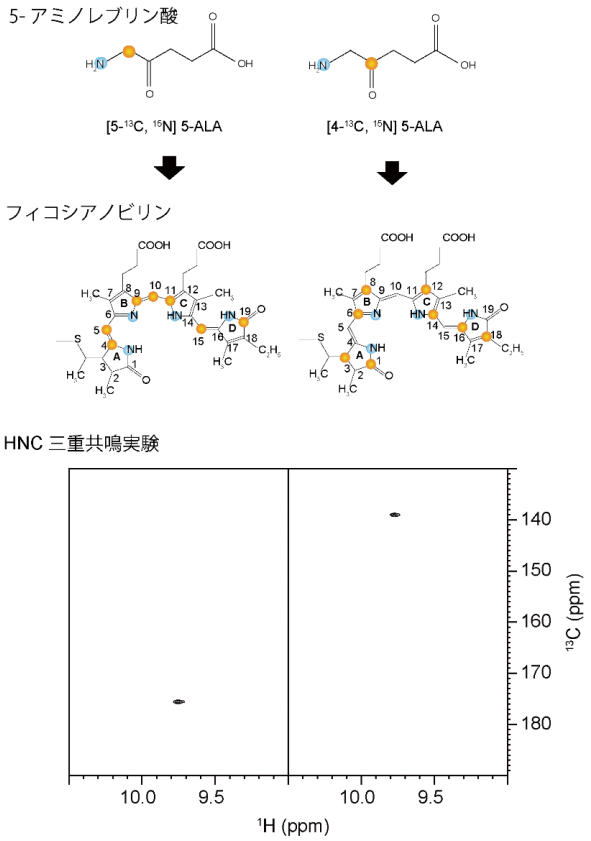


図4　発色団フィコシアノビリンの帰属に向けた選択的標識前駆体の利用。
（上段）作成した5-アミノレブリン酸の選択的標識体2種を示す。（中段）5-アミノレブリン酸を用いて得られた選択的標識フィコシアノビリン。（下段）選択的標識フィコシアノビリンのHNC三重共鳴から得られたそれぞれのスペクトル。

文　献

［1］ Nagae T, Unno M, Koizumi T, Miyanoiri Y, Fujisawa T, Masui K, Kamo T, Wada K, Eki T, Ito Y, Hirose Y, Mishima M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **118** e2024583118 (2021).

［2］ 永江峰幸、青山洋史、三島正規　*日本核磁気共鳴学会機関誌* 2022年度 第**12**巻**2**号 69-74.

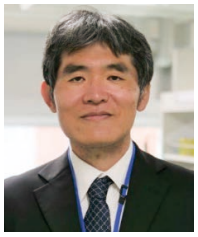
［3］ Aoyama H, Iizuka Y, Kawanishi R, Shibatomi K, Arakawa Y, Tsuji H, Hirose Y, Mishima M. *Tetrahedron Lett.* **123**, 154570, (2023).

三島 正規（みしま・まさき）

2001年 3月　奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科
分子生物学専攻 博士後期課程修了（博士（バイオサイエンス））
2001年 4月　横浜市立大学（木原記念生命科学振興財団）博士研究員
2001年12月　奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 助手
2006年 4月　東京都立大学（首都大学東京）理学研究科（理工学研究科）准教授
2007年 2月～10月　日本学術振興会海外特別研究員 派遣先 欧州分子生物学研究所（EMBL Heidelberg）
2021年 4月　東京薬科大学 薬学部 教授

青山 洋史（あおやま・ひろし）

2003年 3月　岐阜大学大学院 工学研究科 物質工学専攻 博士後期課程修了（博士（工学））
2003年 4月　科学技術振興機構 研究員
2006年 1月　理化学研究所 研究員
2006年 8月　東京大学 助教
2011年 4月　東京薬科大学 薬学部 講師
2013年 4月　東京薬科大学 薬学部 准教授



武田 光広（たけだ・みつひろ）

2005年 3月　東京大学大学院 薬学系研究科 博士課程卒業
2005年 4月　科学技術振興機構CREST研究員
2007年 2月　名古屋大学大学院 理学研究科附属構造生物学研究センター研究員
2011年 8月　同センター 特任助教
2015年 4月　熊本大学大学院 生命科学研究部 助教
2023年 4月　東京薬科大学 薬学部 講師

永江 峰幸（ながえ・たかゆき）

2012年 3月　名古屋大学 大学院工学研究科 化学生物工学専攻
博士後期課程 修了（博士（工学））
2012年 4月　名古屋大学 大学院工学研究科 中核的研究機関研究員
2014年 4月　高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 博士研究員
同 6月　名古屋大学 シンクロトロン光研究センター 特任助教
2016年 4月　名古屋大学 シンクロトロン光研究センター
シンクロトロン光利用研究部門 特任助教
2019年 4月　名古屋大学 シンクロトロン光研究センター
シンクロトロン光利用研究部門 助教
2022年 4月　東京薬科大学 薬学部 助教

会員便り：若手NMR研究会便り

第22回若手NMR研究会開催報告

京都大学 エネルギー理工学研究所 助教
山置 佑大
yamaoki.yudai.7n@kyoto-u.ac.jp

はじめに

2022年9月12日～13日の2日間、第22回若手NMR研究会がオンライン会議ツールZoomおよびGather Townを使用して開催されました。若手NMR研究会は、NMRを用いて研究を行う学生や若手研究者が集まり、議論や交流を深める勉強会です。これからNMRを使い始める学生や、自身の研究をさらに発展させたい若手研究者、様々な分野で活躍されている研究者の方々に幅広く参加していただき、NMRについての実践的な方法や最先端の利用法などを議論し、世代を越えたつながりを築ける場を提供することを目指しています。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。

開催にあたって

第22回若手NMR研究会は、京都大学エネルギー理工学研究所の山置と近藤敬子博士が世話人を務めました。また会期中の運営に関しては、京都大学エネルギー理工学研究所の片平正人研究室の博士課程、修士課程の学生さん（TU、TEO、阪本、八木、川上、松尾、森田、計、大賀、兎澤、増永（敬称略））11名が担当しました。

第22回は、第21回に続いてオンラインでの開催となりました。若手会の醍醐味の1つはやはり合宿形式での参加者同士の交流であるため、ギリギリまで現地開催の可能性を検討しましたが、参加者の安全を最優先とし、オンライン開催に踏み切りました。

一方で、オンライン開催ではありますが、なるべく参加者同士が交流しやすい形式を考え、会期中はGather Townというオンライン会議システムでバーチャル空間の会場を用意しました。Gather Townでは、参加者が自身の分身となるアバター

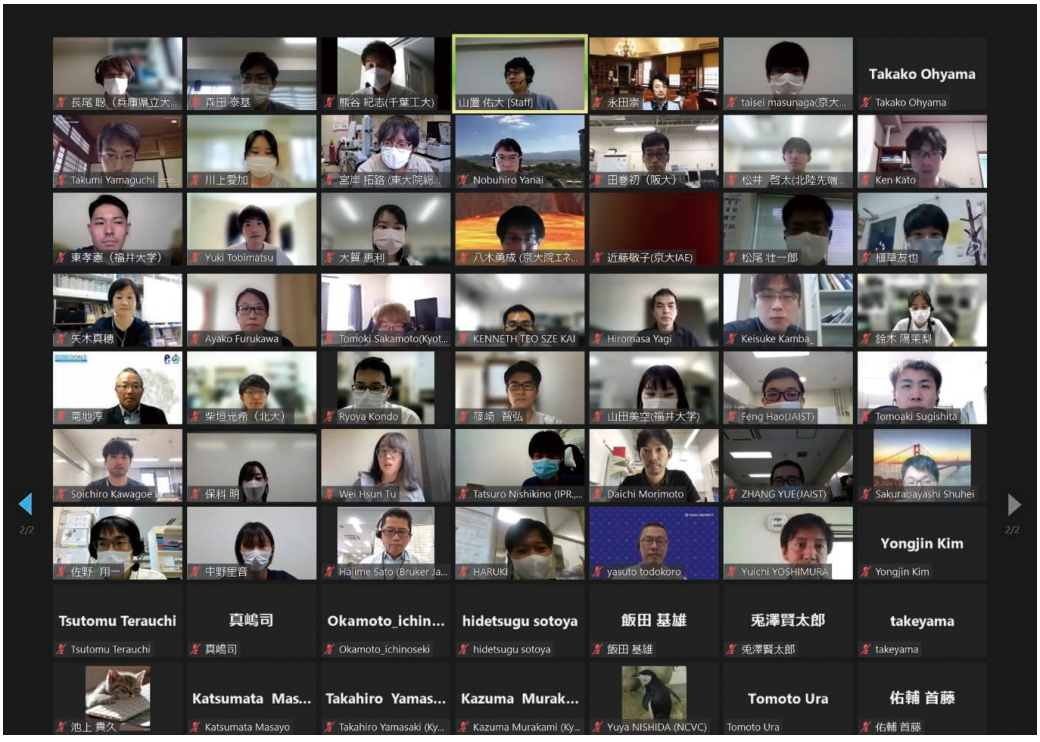


写真1　Zoomでの集合写真。参加者の皆様、講師の先生方、多くの方々のおかげで盛会のうちに終えることができました。

受領日：2023年6月12日　受理日：2023年7月19日　編集委員：川村出

を操作することで会場を自由に移動することができ、近くにいるアバター間でのみビデオ通話が可能となっています。これにより、現地開催の時のようなすれ違いざまの挨拶や、ちょっとした研究の打ち合わせなどの気軽な交流ができるように準備しました。

オンライン開催のメリットとして、参加費や移動時間などの負担が減ることで、より多くの方にご参加いただけた点があるかと思います。多くの先生方、学生さんにお声がけをさせていただき、最終的に125名の研究者にご参加いただきました。参加者は大学院生、博士研究員等の若い世代から教員まで幅広い年齢層となりました。

また、第22回若手NMR研究会は蛋白研セミナー 基礎から学ぶ最新NMR解析法の第5回ワークショップと連続した日程で共同開催とし、互いに同じオンライン会場を使用することで、これまで若手NMR研究会に参加したことのない人にも多数ご参加いただくことができました。

第22回は「NMRによる多彩な生体試料へのアプローチ」をテーマとして、NMRを活用して様々な生体分子の研究を展開されている先生方、またそのためのNMR手法開発を進めておられる先生方にご講演をお願いし、これからのNMR研究の可能性について学び、議論できる場となるよう企画しました。最終的に以下のようなプログラムに決定しました。

9月12日（月）

基礎講座

永田 崇 先生（京都大学）

「タンパク質のNMR シグナルの帰属・構造解析の基礎～自動化の時代～」

招待講演1

大山 貴子 先生（理化学研究所）

「長鎖RNAのNMR解析」

招待講演2

山口 拓実 先生（北陸先端科学技術大学院大学）

「オリゴ糖鎖の立体構造・ダイナミクスの解析と制御」

招待講演3

飛松 裕基 先生（京都大学）

「NMR法を活用した木質バイオマスの構造・形成・利用研究」

招待講演4

菊地 淳 先生（理化学研究所）

「デジタル化時代のNMRデータサイエンス展望」

招待講演5

楊井 伸浩 先生（九州大学）

「トリプレットを用いた生体関連分子の超核偏極」

招待講演6

田巻 初 先生（大阪大学）

「MAS固体NMRによるタンパク質構造解析」

招待講演7

八木 宏昌 先生（理化学研究所）

「In-cell NMR; 細胞内環境でタンパク質を測る」

ポスター発表・懇親会

9月13日（火）

招待講演8

日比野 絵美 先生（名古屋大学）

「液－液相分離へのNMRのアプローチを考える」

招待講演9

古川 亜矢子 先生（横浜市立大学）

「二本鎖DNAの動的構造解析」

招待講演10

森本 大智 先生（京都大学）

「溶液NMR法を用いたタンパク質のその場観察」

会期中の様子

第22回はNMRの多様なアプリケーションの可能性を議論すべく、様々な標的分子に対するアプローチについてご講演いただきました。初日は、永田崇先生による基礎講座からスタートしました。溶液NMR法によるタンパク質の立体構造解析について、測定と解析のエッセンスやコツについて基礎から最新の自動化の取り組みまで含めて講義していただきました。招待講演は大山貴子先生の核酸の構造解析に関するご講演から始まり、特に150残基を超えるような長鎖RNAの構造を解析していく手法についてご紹介いただきました。続く山口拓実先生には、様々な糖鎖の動態を理解するためのNMRとMDを組み合わせたアプローチをお話しいただき、ランタノイドイオン等を駆使した研究例もご紹介いただきました。

午後は、リグニンなどの植物バイオマス由来の成分の構造解析について飛松裕基先生にご講演いただき、それらが形成する細胞壁超分子構造の解析に対する固体NMR法を用いた取り組みなどもご紹介いただきました。菊地淳先生にはパターン認識と多変量解析について、基礎となる考え方から丁寧にご説明いただき、バイオマスや海水、食

品などの複雑な混合系の解析、評価に応用する研究についてご講演いただきました。楊井伸浩先生には、独自の偏極剤を用いた光励起三重項を利用するtriplet-DNP法についてご講演いただき、初めて固体から液体へと偏極を移した最新の研究成果についてもご紹介いただきました。田巻初先生には、MAS固体NMR法について、溶液NMR法との違いといった基礎的な部分から最新のアミロイド線維構造の解析への応用例まで実物のローターなども示しながら丁寧にご講演していただきました。八木先生にはin-cell NMR法について、基礎となる様々な技術のご説明から、生細胞内における蛋白質の状態の解析、内在性分子との相互作用解析を駆使して酵素の反応機構を明らかにした研究についてご講演いただきました。

1日目の招待講演の後は、一般参加者の交流のきっかけとしてポスター発表の時間も設けました。合計15件の発表があり、Gather Townのマップにあるポスター発表会場に移動し、自身の分身であるアバターを操作しながら各ポスターブースへ移動し、発表・ディスカッションを行いました。ポスター発表後はそのままGather Town内で懇親会に移行しました。ポスターブース以外でもマップ上で近くにいる参加者どうしでは通話ができるので、研究の話から雑談まで会場のあちこちで会話が弾んでいました。

2日目は日比野絵美先生のご講演から始まり、液ー液相分離を起こしているタンパク質の解析においてNMR法でどのように情報を得ることができるのか、NMR法ならではの利点などをご紹介いただきました。古川亜矢子先生には、エピゲノム修飾によって二重鎖DNAの塩基対の動的構造がどのように変化するのかを、プロトン交換速度解析や緩和分散法を組み合わせた解析から明らかにした研究についてご講演いただきました。最後に、森本大智先生より、Rheo-NMR法による生体内での流動性やATPなどの細胞内分子の存在下といった生体内環境を再現した条件でのアミロイド性蛋白質の解析についてご講演いただきました。

どのご講演に対しても若手会らしく修士、博士課程の大学院生からの質問が多数あり、シニアの先生も交えて活発に交流・ディスカッションが行われました。

第 22 回研究会を振り返って

第22回若手NMR研究会は、多くの方々のご協力の下で盛会のうちに終えることができました。ご参加いただきました皆様、ご講演いただいた先生方、ご支援・ご協力をいただきました京都大学エネルギー理工学研究所、大阪大学蛋白質研究所、次世代NMRワーキンググループの皆様に、この場をお借りして心より御礼申し上げます。

最後に、次回の第23回若手NMR研究会は大阪大学 田巻初様が中心となり開催される予定となっております。ご参加、ご講演、ご宣伝等、引き続き当研究会にお力をお貸しいただけますと幸いです。

第22回若手NMR研究会ホームページ
http://www.iae.kyoto-u.ac.jp/bio/22nd_wakateNMR/wakate_about.html

写真2　Gather Town内に作成された第22回若手NMR研究会会場の様子。招待講演中のため、左側の講演会場に参加者が集まっている。ポスター発表と懇親会は右側の会場で行われた。

会員便り：海外学会参加報告

EUROMAR 2023 参加報告書

Postdoctoral Researcher, Department of Chemistry
Tokyo Metropolitan University, Japan
Pooppadi Maxin Sayeesh
sayeesh@tmu.ac.jp

Myself Dr.P.M.Sayeesh, postdoctoral fellow working under the guidance of Prof. Yutaka Ito, Department of Chemistry, Tokyo Metropolitan University, Japan.

I participated in the 19th European Magnetic Resonance Congress, which was held in Glasgow, Scotland, from July 9th to 13th. I was fortunate to succeed in my application for the Young Researcher Travel Grant provided by the Japan NMR Society, which partially covered my travel expenses. I would like to thank Prof. Toshimichi Fujiwara, the Chairman of the Japan NMR Society, and the selection committee for their consistent support in the arrangement of this travel grant.

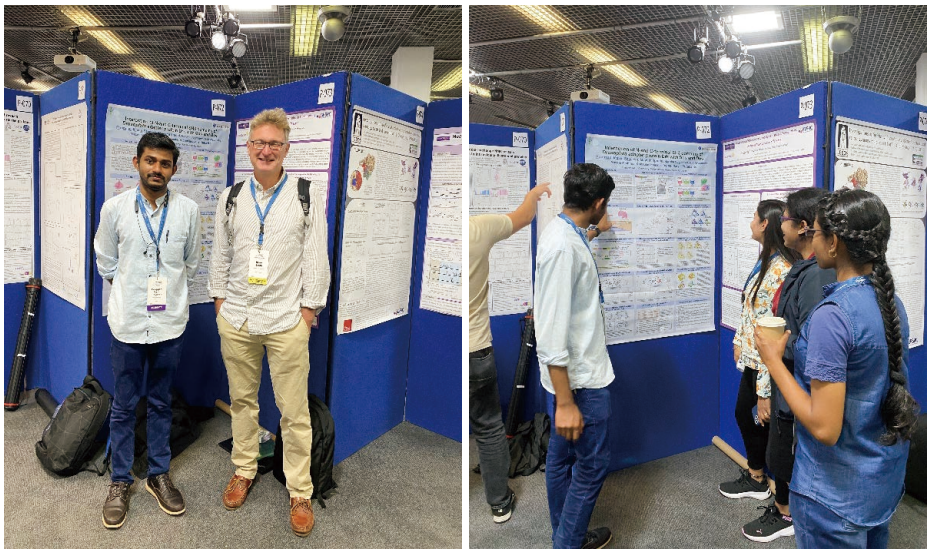
The conference was hosted in the heart of Glasgow, Scotland's cultural and commercial capital at the Scottish Events Campus (SEC), a splendid venue conveniently located near Glasgow Airport. The opening ceremony started on the 9th of July with a welcome reception in the Glasgow city center. The conference program was thoughtfully organised, featuring plenary sessions as well as parallel sessions and tutorials. The tutorial section included best practices in scientific publishing and artificial intelligence applied to magnetic resonance and foundations of machine learning. During the plenary section, I could learn about the new trending ideas and topics. During the parallel sessions, my focus was directed toward topics based on Solution NMR methods. Additionally, the poster presentations spanned three days, from July 10th to 12th between 3:45 pm to 5:45 pm and more than 400 posters were presented.

In this opportunity, I presented a poster entitled "Interaction of N-and C-terminal SH3 domains of *Drosophila* adapter protein Drk" (Poster No-072). My poster is mainly based on the NMR studies of Src homology domains of adapter protein Drk. In a brief: Drk, a Drosophila homologue of human GRB2, binds towards the phosphotyrosine residue of Sev via its SH2 domain, while the N- and C-terminal SH3 domains (Drk-NSH3 and Drk-CSH3, respectively) are responsible for the interaction with proline-rich motifs of Son of sevenless (Sos) or Daughter of Sevenless (Dos). Isolated Drk-NSH3 is in a conformational equilibrium between the fold and unfolded states, and it interacts with the PxxPxR motifs in Sos. Drk-CSH3 is supposed to bind the PxxxRxxKP motifs in Dos. To identify the functional differences between the two SH3 domains, structure determination of Drk-CSH3 as well as the NMR titration experiments with Sos-and Dos-derived peptides were performed.

During the conference, I actively participated in discussions with numerous delegates, and I also had the opportunity to receive insightful comments and suggestions during my poster presentation. This interaction left me feeling highly motivated, and I' m eager to delve into

Venue-Scottish event campus

ニュースレター掲載日：2023年8月17日



During the poster presentation

the new ideas and perspectives that I gained from the conference. I would like to take this moment to express my gratitude to the Japan NMR Society for their generous support through the Young Research Travel Grant. This support played a crucial role in enabling me to attend and participate in such a fruitful and enriching event.

Reference

［1］ Sayeesh, P.M. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **625**, 87-93 (2022).

NMR

Bulletin of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan

Vol.13 No.1

2023 年 8 月 25 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 3-11-15-6F
TEL：03-3238-1689　FAX：03-3238-1837