

巻頭エッセイ 河合剛太

総説論文：解説 山置佑大、永田 崇、片平正人

NMR講座：NMR基礎講座 松木 陽

NMR講座：NMR基礎講座 越野広雪

総説論文：トピックス 加藤晃一、木川隆則

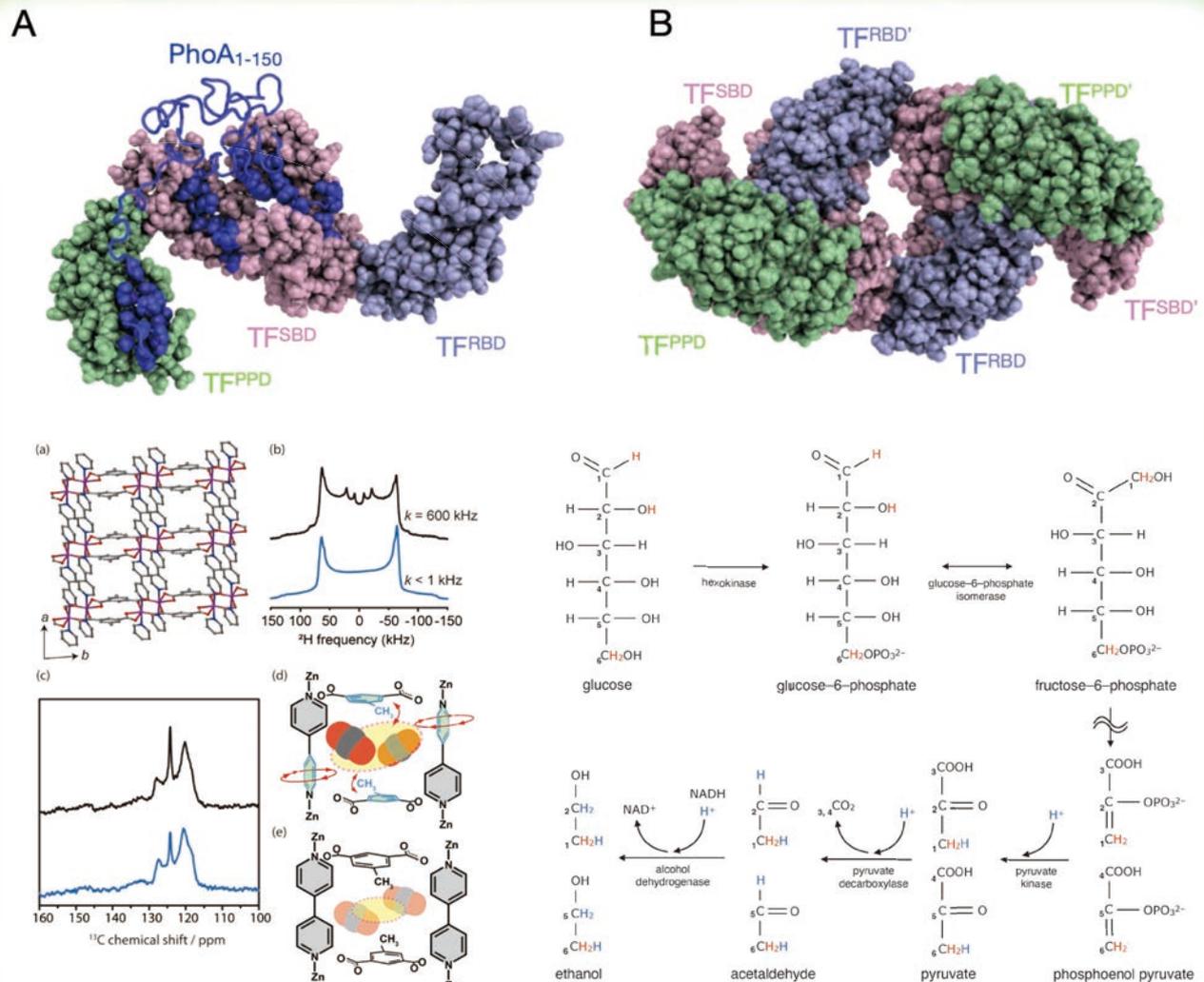
総説論文：トピックス 八木宏昌

会員便り：研究室便り 岩川直都

会員便り：若手NMR研究室便り 熊代宗弘

会員便り：海外学会参加報告 金澤 匠、安藤翔太、山本泰雅

NMR学会からのお知らせ



広告掲載一覧

(申し込み先着順)

NMRプラットフォーム
(文科省 先端研究基盤共用促進事業)

株式会社 シゲミ

ブルカージャパン 株式会社

日本電子 株式会社

太陽日酸 株式会社

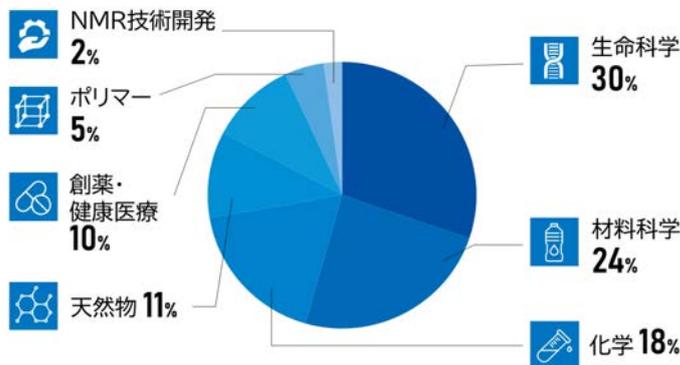
株式会社 エルエイシステムズ

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。

先端的NMR研究基盤の設備・技術・人材のネットワークにより 我が国の研究開発の促進・イノベーション創出に貢献します

NMRプラットフォームは、北海道大学、東北大学、東京大学、理化学研究所、横浜市立大学、生命創成探求センター、大阪大学、広島大学の8機関がネットワークを形成して、産官学の皆様に先端的なNMR設備へのアクセスを提供しています。2021年-2024年の4年間で設備を使用した研究成果が468報発表されています。

NMRプラットフォームは、様々な分野で利用されています。



※2021-2024年の4年間に於ける理化学研究所NMR外部利用者の課題数を元に計算

北海道大学

- 食や健康など幅広い生命科学研究を中心に支援
- 溶液・固体・半固体に対応の最新のプローブ



溶液 固体 半固体
極低温
プローブ オート
サンプラー 高速MAS DX対応
60MHz/600MHz/800MHz

東北大学

- 3台の高磁場溶液NMR
- サンプルチェンジャーによる多検体自動測定



溶液
極低温
プローブ オート
サンプラー DX対応
600MHz/800MHz

東京大学

- 膜タンパク質などにも適用可能な独自の測定技術
- 独自の動的構造平衡解析技術



溶液
極低温
プローブ
600MHz/800MHz

理化学研究所

- 世界最大規模のNMRラインナップ
- 安定同位体標識技術



溶液 固体
極低温
プローブ オート
サンプラー 高速MAS DX対応
400MHz/600MHz/700MHz/
800MHz/900MHz

横浜市立大学

- 世界最高レベルの超高磁場LC-NMR装置
- 日本最高レベルの超高磁場固体NMR装置



溶液 固体
極低温
プローブ オート
サンプラー 高速MAS DX対応 LC-NMR
600MHz/700MHz/
800MHz/950MHz

生命創成探究センター

- 800MHz溶液NMR
- 糖タンパク質の安定同位体標識技術



溶液
極低温
プローブ DX対応
800MHz

大阪大学

- 最高性能の溶液NMR装置群と¹⁹F化合物ライブラリーによるスクリーニング
- 超高感度DNP-NMR装置



溶液 固体
極低温
プローブ オート
サンプラー 高速MAS DNP
400MHz/500MHz/600MHz/700MHz/
800MHz/950MHz

広島大学

- 異方性核スピンや核スピン緩和を利用した構造解析
- 半固体試料NMR構造解析



溶液 固体 半固体
極低温
プローブ DX対応
400MHz/500MHz/600MHz/700MHz

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

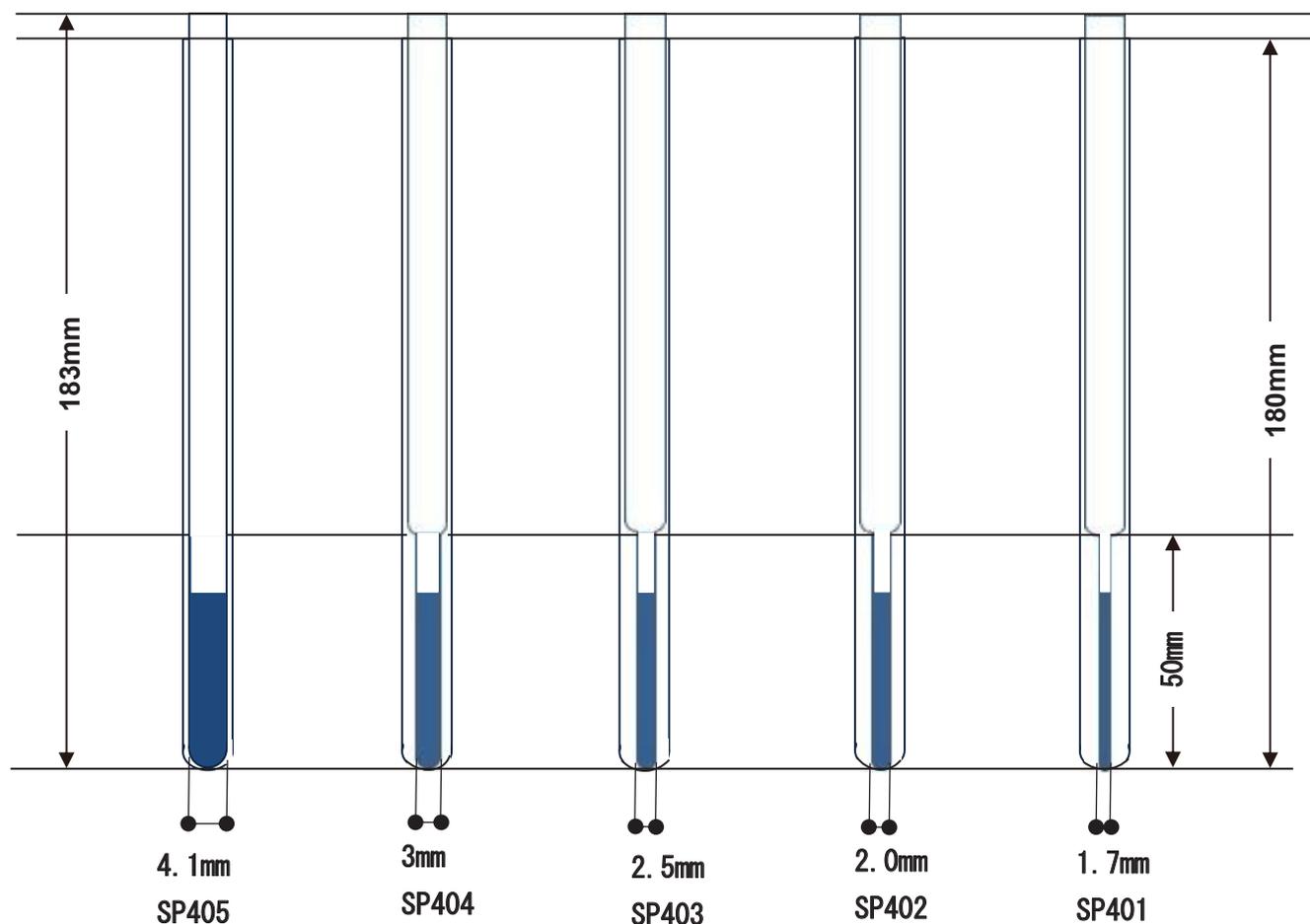


<https://nmrpf.jp/>

5mmφ同軸NMRチューブセット

サンプルとロック溶媒を混合できないなど、別々のガラスに分けて測定したい場合、同軸試料管を使用するとサンプルの出し入れなどで煩わしさがありました。本セットを使用することで、パストツールが入れやすくなりました。また、スペーサは必要なく、5mmφ用のキャップをかぶせることができます。

通常の5mm管との組み合わせの他に、薄肉タイプの5mm管と組み合わせ外管内のボリウムを上げることができます。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。



P.N.	Inner Tube Stem O.D.	Outer Tube I.D.	Inner Tube Volume 40mm high	Outer Tube volume (When setting with an inner tube and an outer tube) 40mm
SP-401	1.7mm	4.22mm	45uL	459uL(Thin wall Outer Tube)
SP-402	2mm	4.22mm	70uL	425uL(Thin wall Outer Tube)
SP-403	2.5mm	4.22mm	113uL	355uL(Thin wall Outer Tube)
SP-404	3mm	4.22mm	194uL	270uL(Thin wall Outer Tube)
SP-405	4.1mm	4.22mm	317uL	55uL(Thin wall Outer Tube)
SPT-401	1.7mm	4.545mm	45uL	547uL(Ultra Thin wall Outer Tube)
SPT-402	2mm	4.545mm	70uL	512uL(Ultra Thin wall Outer Tube)
SPT-403	2.5mm	4.545mm	113uL	442uL(Ultra Thin wall Outer Tube)
SPT-404	3mm	4.545mm	194uL	257uL(Ultra Thin wall Outer Tube)
SPT-405	4.1mm	4.545mm	317uL	142uL(Ultra Thin wall Outer Tube)



NMR
SHIGEMI

Mail: info@shigemi.co.jp TEL:042-624-2207 FAX:042-622-0937

“卓上型NMR”という選択肢

ランニングコストを抑え、合成反応の確認をお手軽に

- ▶ 液体ヘリウムを使わず単相100Vで稼働
- ▶ 幅70cm×奥行60cm×高さ50cmでコンパクト
- ▶ 二次元測定等の様々なNMR測定にも対応
- ▶ 業界スタンダードソフトTopSpinで高度な解析も可能

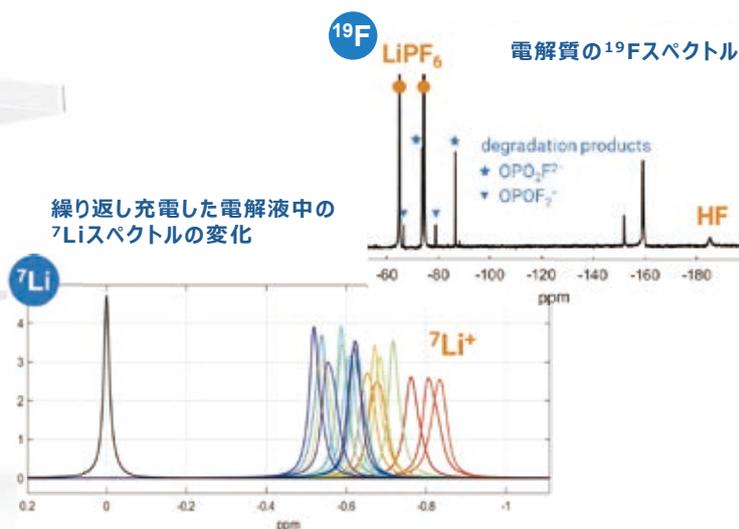


卓上型FT-NMR Fourier 80

『Multi Talent (多核モデル)』登場

NEW

- ▶ ^1H はもちろん、多核は ^{19}F , ^{31}P , ^{13}C , ^{29}Si , ^7Li , ^{15}N 等 計15核種に対応
- ▶ 手動のチューニング・マッチングは不要
- ▶ ^1H デカップリングや二次元測定がTopSpinライブラリに多数標準搭載



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

よりユーザーフレンドリーに、より安心安定な装置に・・・

NMRメーカー初！

NMR用冷媒蒸発抑制装置

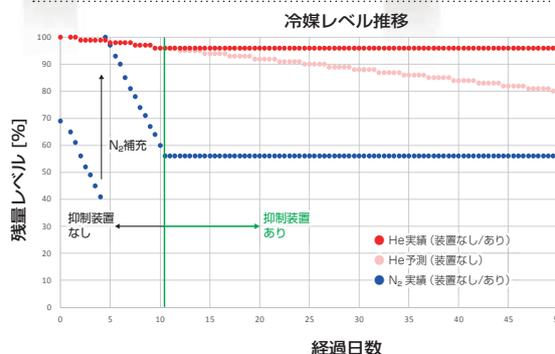
昨今の液体ヘリウムへの不安・心配解消へ



主な特長

- 軽量・省スペースながら、1台で液体ヘリウム、液体窒素の蒸発を制御
- 冷媒補充作業の頻度・費用を大幅低減し、装置の稼働時間を最大化
- 冷媒入手難等によるNMR装置の運転停止リスクを低減
- 新設計により冷凍機振動を十分に抑制し、スペクトルへの影響を最小化
- 既設NMRマグネットへの後付け可能

設置前後での冷媒レベル推移一例



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

Stable Isotope for Structural Biology

We supply high quality stable isotope labeled compounds for NMR research at affordable prices.

Cell-Free Protein Expression Service

We offer protein expression service of intracellular proteins, secretory proteins, and membrane proteins. You can easily inquire from our website.

- Template DNA design and preparation
- Reaction condition screening
- Yield and solubility assay
- Large scale synthesis



Cell-Free Protein Expression Kit

This kit was developed under RIKEN's license of advanced cell-free protein synthesis technology. E.coli-based system can express various types of proteins including antibodies and membrane proteins in large quantities, quickly and easily. Also, stable isotope labeling can be performed with high efficiency.



■ Features - Cell-Free Protein Expression Kit Start
You can easily try cell-free protein synthesis. Six reactions of small scale (0.1 mL) synthesis can be carried out with included microdialysis devices. The kit is suitable for expression yield /solubility assay and reaction condition optimization.

Product No.	Product name	Qty	Storage temperature
A183-0242	Cell-Free Protein Expression Kit Start	1 kit (0.1 mL x 6 rxn)	-80°C
A89-0126	Cell-Free Protein Expression Kit SISS	1 kit (1 mL x 1 rxn)	-80°C
A29-0059	Cell-Free Protein Expression Kit SI	1 kit (1 mL x 1 rxn)	-80°C

◎ Linear template DNA prepared by PCR can be used.

This product was developed with the support of the Japan Science and Technology Agency.

Stable isotope labeled amino acids / Membrane protein expression additive for Cell-Free Protein Expression Kit

■ Stereo-Array Isotope Labeled Amino Acids

Please feel free to contact us.

■ Stable Isotope Labeled Amino Acids

Product No.	Product name	Qty
A107-0144	Amino Acids Mixture Solution-d	1 mL
A39-0072	Amino Acids Mixture Solution-UL- ¹⁵ N	1 mL
A41-0074	Amino Acids Mixture Solution- ¹⁵ N, d	1 mL
A40-0073	Amino Acids Mixture Solution-UL- ¹³ C, ¹⁵ N	1 mL
A42-0075	Amino Acids Mixture Solution-UL- ¹³ C, ¹⁵ N, d	1 mL
A91-0128	Amino Acids Mixture Solution-Lys, Arg-UL- ¹³ C, ¹⁵ N	1 mL
A92-0129	Amino Acids Mixture Solution-Lys, Leu-UL- ¹³ C, ¹⁵ N	1 mL
A108-0145	Amino Acids Mixture Solution-SeMet	1 mL

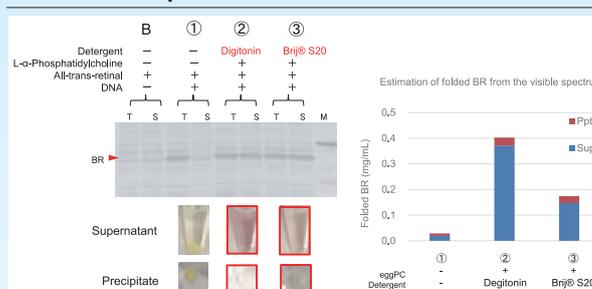
Contains 20 kinds of amino acids.

■ Additives for membrane protein expression

Product No.	Product name	Qty
A226-0290	Membrane protein expression additive SetA	1 kit

Membrane protein expression example

Bacteriorhodopsin



Purplish brown color represents proper folding of Bacteriorhodopsin.

Applications

- ◎ High-throughput protein expression, cytotoxic protein expression, mutant expression
- ◎ Protein expression for multidimensional NMR, cryo-electron microscope, X-ray diffraction, neutron diffraction, etc.
- ◎ Stable isotope labeled protein expression for mass spectrometry

Nucleic acid

- 10%, 20% Phosphoramidites (¹³C, ¹⁵N, d)
- NTPs / NMPs (¹³C, ¹⁵N, d) ● RNA / DNA oligomer custom synthesis

Culture medium

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

Amino acid / keto acid

- L-Amino Acids (¹³C, ¹⁵N, d) ● Algal Amino Acids (¹³C, ¹⁵N, d)
- α-Keto Acids (¹³C, d)

Others

- Deuterated NDSB ● Lanthanide Tag
- Water-¹⁷O (10-90atom%) ● Pf1 NMR Cosolvent

* Please feel free to contact us. We can provide a specialized catalog for Biomolecular NMR.

TAIYO NIPPON SANSO Corporation
SI Division



TAIYO NIPPON SANSO
The Gas Professionals

ISOTEC™



*Prices are excluding tax.

NMRシステム, 固体NMRアクセサリ

LAS

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

Q.One
Instruments

高品質で革新的なNMRシステム「Quantum II」400MHz~600MHz

NMR完全自動化で、快適かつ
高効率な測定環境を実現

既存マグネットを活かした柔軟な
システムアップグレードが可能



【システムの特長】

- 2H/19F Digital Lock Systemにより
ロック核のシームレス切替を実現
- AIチャットツール「NMR Chat™」に
よるスペクトルベースの構造予測機能
を無料で提供



PHOENIX NMR
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



MASローター
(1.2mm - 7.5mm)



HXY Premium プローブ 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
(1.3mm - 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)

NMR

*Bulletin of the Nuclear Magnetic
Resonance Society of Japan*

Vol. **15** No.2

February 2026

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

CONTENTS

●巻頭エッセイ RNAの構造生物学から創薬へ	59
河合 剛太	
●総説論文：解説 ヒト生細胞内環境下の核酸分子を対象としたin-cell NMR研究	62
山置 佑大、永田 崇、片平 正人	
●NMR講座：NMR基礎講座 核スピン超偏極 (DNP) 入門	73
松木 陽	
溶液NMRでブロードな信号を与える化合物	88
越野 広雪	
●総説論文：トピックス AI for Science時代におけるNMR研究基盤の再構築	93
加藤 晃一、木川 隆則	
次世代NMRワーキンググループ活動報告 基礎から学ぶ最新NMR解析法 第10回ワークショップ － NMRが繋ぐ分子現象基盤の創薬研究－	99
八木 宏昌	
●会員便り：研究室便り 中外製薬株式会社 タンパク質科学研究部 タンパク質科学5G生体系NMRチームのご紹介	103
岩川 直都	
●会員便り：若手NMR研究室便り 第25回若手NMR研究会開催報告	106
熊代 宗弘	
●会員便り：海外学会参加報告 Pacifichem2025 参加報告書	111
金澤 匠	
Pacifichem2025 参加報告書	113
安藤 翔太	
Pacifichem2025 参加報告書	114
山本 泰雅	
●NMR学会からのお知らせ 2025年度学会顕彰：進歩賞	116
若手ポスター賞選考経緯報告	117
日本核磁気共鳴学会の決定事項	119
日本核磁気共鳴学会機関誌投稿規定	121
賛助会員名簿	123
日本核磁気共鳴学会機関誌編集委員会委員名簿 (2024-2025年度)	124

RNAの構造生物学から創薬へ

千葉工業大学先進工学部生命科学科 教授

河合 剛太

gota.kawai@p.chibakoudai.jp

リボ核酸 (RNA) は、細胞内においてさまざまな構造を形成し、機能している。翻訳において機能しているリボソーム RNA や tRNA をはじめ、フレームシフトに関わるシュードノットや遺伝子発現制御に関わるリボスイッチ、さまざまな RNA 結合タンパク質が認識するステムループ構造、さらには液-液相分離を誘導する arcRNA など、すでに知られている RNA に加えて、おそらく細胞内にはまだ知られていない多くの機能性 RNA が存在すると予想されている。これらの多くはその構造を変えながら機能している。NMR は、そのような RNA の研究に最適な手法である。

私は東京大学理学部生物化学科において、宮澤辰雄先生、荒田洋治先生、横山茂之先生のもとで学部4年生として RNA の NMR 研究に着手した。横山先生の指導のもと、tRNA に含まれる修飾ヌクレオチドのコンホメーションと機能の関係についての研究を進めたのち、宮澤先生に声を掛けていただいて横浜国立大学に就職し、その後、東京大学工学部工業化学科の渡辺公綱先生のもとで tRNA の研究を続けるとともに、RNA の分子生物学について多くを学んだ。幸運なことに 1997 年に千葉工業大学工学部工業化学科において独立した研究室を持たせていただき、改めて NMR 法による RNA の構造生物学に関する研究をスタートさせた。

千葉工業大学における最初の研究テーマの一つが、HIV-1 のゲノム RNA の研究である。HIV-1 のウイルス粒子中には同一のゲノム RNA が 2 本含まれており、その 5' 末端側で結合して二量体を形成していること、および、ウイルス粒子が出芽した直後と、その後成熟したのちで二量体の安定性が異なることが知られていた。そこで、この二量体化の開始に関与する領域である dimerization initiation site (DIS) についての立体構造解析を行った。試料調製の方法を工夫して 2 種類の異なる状態の RNA 試料を調製し^[1]、安定同位体標識

を活用してその二量体に含まれる二本鎖領域 (ステム) が分子内であるか分子間であるかを区別したのち^[2]、39 残基の RNA からなる合計 78 残基の二量体 RNA の立体構造を 3 つの部分に断片化によってそれらの立体構造を決定することによって、当時推定されていた二次構造モデルを立体構造で証明した^[3]。HIV-1 については、その後、プロウイルスに存在する 3 つの転写開始点から転写される 3 種類の RNA について、電気泳動法、融解温度解析および NMR 法によってそれぞれの構造と安定性を調べることによって、RNA の構造とゲノム RNA として機能するか mRNA として機能するかの機能制御の関係について明らかにした^[4]。

レトロウイルスである HIV-1 はウイルス粒子を形成し細胞外に出て別の細胞に感染するが、ウイルス粒子を形成しないレトロトランスポゾン は、自身から転写した RNA からの逆転写によって DNA を合成し、同じ細胞中のゲノムの別の位置に自身のコピーを作成する。このとき、レトロトランスポゾンの持つ逆転写酵素は、自身の mRNA のみを識別し逆転写する。レトロトランスポゾン的一种であるウナギ由来の LINE では、逆転写酵素が自身の mRNA の 3' 末端近くに存在する GGAUA ループを認識することが知られていたが、その詳細は明らかにされていなかった。そこで、そのステムループ構造の立体構造を NMR 法によって決定したのち、さまざまな変異体について NMR スペクトルの測定を行うことによって立体構造の特徴を解析した。その結果、GGAUA ループの立体構造の特徴が GGRNA (R: プリン、N: プリンとピリミジン) としてまとめられることが分かり、細胞レベルでの活性測定の結果と一致した^[5]。一方、ゼブラフィッシュには上述のウナギの LINE とほぼ同じもの (ZfL2-2) と、それに近縁な LINE (ZfL-1) が存在し、これらの逆転写酵素はそれぞれ自身の mRNA のみをターゲットとすることが知られていた。この ZfL2-1 に由

来するステムループはGACxA (xはステムループ)という構造を持ち、Zf12-1の逆転写酵素がステムループxを認識することも明らかとしている^[6,7]。このことはLINEの逆転写構造によるRNAの識別機構が巧みに進化していることを示している。

レトロトランスポゾンの転移は、ゲノムの機能に大きな損傷を与える可能性がある。このため生殖細胞ではレトロトランスポゾンの活動がpiRNAと呼ばれる30残基程度のRNAによって抑制されている。piRNAはゲノム中にクラスタとしてコードされており、その生合成にはYbと呼ばれるタンパク質が必要である。しかし、YbがどのようにpiRNAクラスタを持つRNAを識別しているかは分かっていなかった。Ybのターゲットの一つであるtraffic jam mRNAの3'-UTRにはpiRNAクラスタの5'側にtj-cisと呼ばれる100残基の領域があり、この領域がYbの識別に重要であることが知られていた。このtj-cis RNAの構造を解析した結果、2つのバルジアウトしたU残基を持つ特徴的なステムループ構造を見だし、変異体による構造の変化と活性の変化に相関があることを明らかにした^[8]。

ここで紹介した例が示しているように、RNAに形成される特徴的なステムループ構造がその機能に関与していることから、その構造をターゲットとした創薬が可能であると考えられる。そこで、抗菌剤として知られているフルオロキノロン化合物(CPFX)をもとにデザインされた化合物であるKG022を用いた相互作用解析を進めている。研究室の冷蔵庫にNMR試料管に入ったままで保管されていたさまざまなRNAとこの化合物の相互作用を解析したところ、1残基のバルジアウトを持つRNAと相互作用することが分かった^[9]。このRNAはミトコンドリアのtRNA遺伝子の逆鎖から転写されるRNAの構造機能解析を行った際に作成した一群のRNAである^[10]。KG022とRNAステムループとの相互作用の特異性を調べるために、さまざまなRNAの変異体を作成し、NMR法による相互作用解析を行った結果、この化合物はバルジアウト残基としてGおよびCを好み、また前後の塩基対にも特異性を示すことが示された^[11~13]。この結果は、RNAが低分子創薬のターゲットとなることの一つの証拠となっていると考えている。

私がRNAの研究を始めたころ(前世紀の終わり

ごろ)、tRNAやrRNAを除けばRNAは遺伝情報のメッセンジャーにすぎず、細胞機能はタンパク質によって支えられているという考え方が主流であった。このころ著名なRNA研究者が飲み会の席で「RNA研究者は日陰者である」とおっしゃったことをよく覚えている。その後、mRNA中の機能構造、さらにはさまざまなnon-coding RNAが見いだされ、細胞機能においてRNAも重要な役割を担っていることが明らかとなった。RNAはNMRのさまざまな特徴を活かす良い題材でもある。ぜひ多くの若い研究者がRNAに興味を持ち、さまざまな研究にチャレンジしていただきたいと願っている。

参考文献

- [1] Takahashi, K., Baba, S., Chattopadhyay, P., Koyanagi, Y., Yamamoto, N., Takaku, H. and Kawai, G. (2000) Structural Requirement for the Two-Step Dimerization of Human Immunodeficiency Virus Type-1 Genome, *RNA* **6**, 96-102.
- [2] Takahashi, K., Baba, S., Hayashi, S., Koyanagi, Y., Yamamoto, N., Takaku, H. and Kawai, G. (2000) NMR analysis on intra- and inter-molecular stems in the dimerization initiation site of the HIV-1 genome, *J. Biochem.* **127**, 681-639.
- [3] Baba, S., Takahashi, K., Noguchi, S., Takaku, H., Koyanagi, Y., Yamamoto, N. and Kawai, G. (2005) Solution RNA structures of the HIV-1 dimerization initiation site in the kissing-loop and extended-duplex dimers, *J. Biochem.* **138**, 583-592.
- [4] Obayashi, C. M., Shinohara, Y., Masuda, T. and Kawai, G. (2021) Influence of the 5'-terminal sequences on the 5'-UTR structure of HIV-1 genomic RNA, *Scientific Rep.* **11**, 10920.
- [5] Baba, S., Kajikawa, K., Okada, N. and Kawai, G. (2004) Solution structure of an RNA stem-loop derived from the 3' conserved region of eel LINE Unal2, *RNA* **10**, 1380-1387.
- [6] Otsu, M., Kajikawa, M., Okada, N. and Kawai, G. (2017) Solution structure of a reverse transcriptase recognition site of a LINE RNA from zebrafish, *J. Biochem.* **162**, 279-285.
- [7] Otsu, M. and Kawai, G. (2019) Distinct RNA recognition mechanisms in closely related LINEs from zebrafish, *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids* **38**, 294-304.
- [8] Takase, N., Otsu, M., Hirakata, S., Ishizu, H., Siomi, M. C. and Kawai, G. (2022) T-hairpin structure found in the RNA element involved in piRNA biogenesis, *RNA* **28**, 541-550. (2020年度若手ポスター賞)
- [9] Nagano, K., Kamimura, T. and Kawai, G. (2022) Interaction between a fluoroquinolone derivative and RNAs with a single bulge, *J. Biochem.* **171**, 239-244.
- [10] Okui, S., Ushida, C., Kiyosawa, H. and Kawai, G. (2016) Sequence and structure analysis of a mirror tRNA located upstream of the cytochrome oxidase I mRNA in mouse mitochondria, *J. Biochem.* **159**, 341-350.
- [11] Ichijo, R., Kamimura, T. and Kawai, G. (2023) Interac

tion between a fluoroquinolone derivative KG022 and RNAs: Effect of base pairs 3' adjacent to the bulged residues, *Front. Mol. Biosci.* **10**, 1145528.

[12] Ichijo, R. and Kawai, G. (2025) Specific Interaction between a Fluoroquinolone Derivative, KG022, and

RNAs with a Single Bulge, *Biochem.* **54**, 2192-2199. (2023年度若手ポスター賞)

[13] Ichijo, R. and Kawai, G. (2025) Interaction between a fluoroquinolone derivative KG022 and RNAs: effect of the bulged residues, *J. Biochem.* **178**, 229-236.



河合 剛太 (かわい・ごうた)

1984年 3月 東京大学理学部生物化学科卒業

1989年 3月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専門課程 博士課程修了

1989年 4月 日本学術振興会特別研究員

1989年 5月 横浜国立大学工学部物質工学科 助手

1991年11月 東京大学工学部工業化学科 助手

1997年 4月 千葉工業大学工学部工業化学科 講師

2004年 4月 千葉工業大学工学部生命環境科学科 教授

2016年 4月 千葉工業大学先進工学部生命科学科 教授 (現在に至る)

ヒト生細胞内環境下の核酸分子を対象とした in-cell NMR研究

京都大学エネルギー理工学研究所

山置 佑大、永田 崇、片平 正人

yamaoki.yudai.7n@kyoto-u.ac.jp, katahira.masato.6u@kyoto-u.ac.jp

1. はじめに

細胞内部は、タンパク質、核酸、脂質、代謝産物、無機イオンなど、様々な生体分子が高密度に混在したきわめて複雑な環境である。加えて、核、小胞体、ミトコンドリアのような膜構造を有する細胞小器官に加え、核小体やストレス顆粒のような膜を持たない非膜オルガネラも存在する。このような細胞内空間では、分子間の特異的・非特異的相互作用、排除体積効果、水和環境、粘性などが、通常の試験管内条件とは大きく異なる^[1, 2]。したがって、生体高分子の立体構造、構造ダイナミクス、分子認識の様式といった構造生物学的特性は、試験管内と生細胞内で異なっていることが強く示唆されてきた。

この課題に対し、NMR分光法は非常に強力なアプローチである。NMRは高いシグナル分解能を有し、さらに¹³C、¹⁵Nなどの安定同位体標識技術と組み合わせることで、複雑な混合試料中でも特定分子に由来するシグナルを選択的に観測することができる。また、非侵襲性の測定であるため生体試料にも適用可能である。これらの特徴を活かしたin-cell NMR法は、生体高分子を本来の動作環境である生きた細胞内において直接観測可能とする手法であり^[3, 4]、その黎明期には、主にタンパク質を対象として発展した。観察対象であるタンパク質の効率的な細胞内導入法^[5~7]、測定時間を大幅に短縮する高速測定技術^[5, 8, 9]、生細胞を長時間健全な状態で維持するバイオリアクターシステム^[10~13]など、さまざまな基盤技術が確立されてきた。これらの進展により、生細胞内におけるタンパク質の立体構造^[7, 9]、安定性^[5]、翻訳後修飾^[14]、分子間相互作用^[5, 11]、酵素反応^[15]が解析可能となっている。

一方で、核酸を対象としたin-cell NMR研究の最初の例は、やや遅れて2009年にアフリカツメガエルの巨大な卵母細胞を用いて達成され^[16]、長らく核酸in-cell NMRは巨大卵母細胞

を利用した系のみが報告されていた。ヒト細胞の場合は、核酸導入効率が低く、実験に要する大量の核酸を調製する技術の確立が不十分であったことが一因である。筆者らはタンパク質in-cell NMR法の研究で実績のあった、ストレプトリシンO (Streptolysin O, SLO) と呼ばれる毒素タンパク質を利用して細胞膜に細孔を形成する手法^[6, 17]を改良して適用することで、世界に先駆けてヒト生細胞内における核酸のin-cell NMRスペクトル取得に成功した^[18]。その後、これを契機に国内外の複数の研究グループからヒト生細胞を用いた核酸in-cell NMR研究が報告されるようになり、近年、in-cell NMR法を用いたDNA、RNAの解析は急速に拡大している^[19]。生命現象の制御に関わる非コードDNAや非コードRNAをはじめ、核酸医薬品として期待されるRNAアプタマーやアンチセンスオリゴなど様々な核酸分子について、ヒト生細胞内での立体構造^[18, 20~24]、構造安定性^[25, 26]、構造ダイナミクス^[27]、分子間相互作用様式^[28~33]を解析した例が報告されている。

本稿では、我々の研究を中心に、核酸in-cell NMR法の基盤技術の確立と応用研究について概説する。特に、安定同位体標識RNAの大量調製と二次元in-cell NMRスペクトル取得、RNAアプタマーと標的分子の細胞内相互作用解析、RNA分解酵素阻害剤を活用した細胞内RNA延命技術、核酸塩基対開裂ダイナミクスの細胞内解析例を紹介する。さらに、in-cell NMRの現状の課題と将来展望についても議論する。

2. 安定同位体標識 RNA の大量調製法の導入 と二次元 in-cell NMR スペクトルの初測定

RNAアプタマーは、標的分子に高い親和性と特異性をもって結合するオリゴヌクレオチドの総称であり、SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) 法と呼ばれる

試験管内分子進化の手法を用いて人工的に取得される。これまでに、代謝物、低分子化合物、ペプチド、タンパク質、さらには生細胞そのものに至るまで、きわめて多様な標的に対するアプタマーが報告されており、核酸医薬、分子プローブ、バイオセンシング、人工リボスイッチ、細胞内イメージングなど幅広い応用が期待されている。これらのRNAアプタマーの多くは細胞内で機能することが期待されているため、その立体構造および標的分子との相互作用様式が生細胞内でどのようなになっているのかを原子分解能で把握することは、分子機能の理解や創薬研究における合理的設計にとって重要である。

ここで対象としたRNAアプタマー(図1)は、ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)のTatタンパク質を捕捉・不活化するRNAアプタマーであり、Tatの本来の相互作用相手であるHIV-1のTAR RNAに比べ約100倍強く結合する^[34]。TatとTARの相互作用はHIV-1の完全長ゲノムRNAの転写に必須であるため、それを阻害する本RNAアプタマーは抗HIV-1ドラッグとなるポテンシャルを有している。応用に向けた一歩として、本RNAアプタマーが標的のリガンドと想定通りの複合

体を生きたヒト細胞内で形成しているのか否かをin-cell NMR法によって解析することを試みた。このRNAアプタマーはTatのアルギニンに富む領域に結合することが知られているため、細胞内相互作用解析のモデルリガンドとしてアルギニンアミドを用いた(図1、右下)。

安定同位体で標識したRNAアプタマーを使用することは、スペクトル中のシグナルの重複を解消し、非交換性プロトンのシグナルをより高分解能で検出するために有効である。しかし、安定同位体標識RNAをヒト生細胞内に導入するためにはミリグラムスケールのRNAが必要であり、従来法では高価な¹³C、¹⁵N標識ヌクレオチドや固相合成用ホスホロアミダイトを大量に消費するため、コストの面で実験が大きく制限されていた。結果として、ヒト生細胞を用いた核酸in-cell NMRにおける異種核二次元スペクトル(¹H-¹⁵N、¹H-¹³C HMQC)の取得例は報告がなかった。

筆者らはこの課題に対し、大腸菌を用いた細胞内転写を利用して比較的安価にミリグラムスケールの安定同位体標識RNAを調製するtRNAスキヤフォールド技術^[35]を導入することでアプローチした。この方法では、目的RNA配列をtRNAス

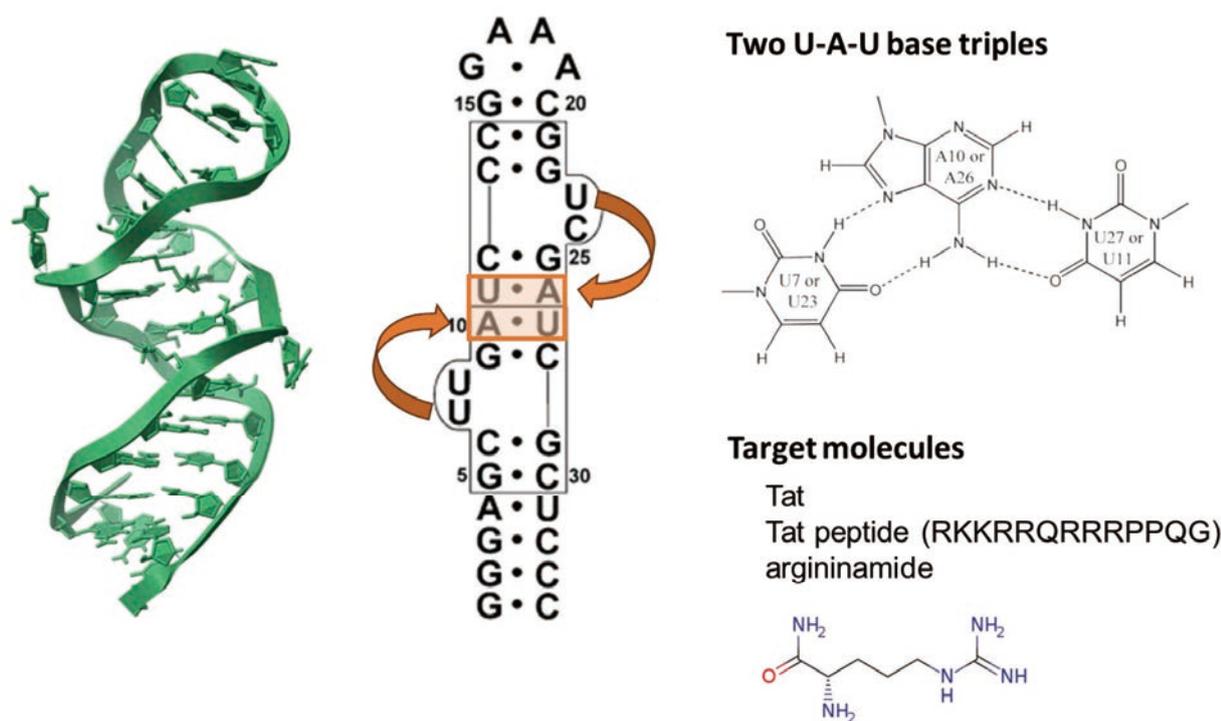


図1 HIV-1 Tatタンパク質に対して高い親和性で結合するRNAアプタマー。(左) NMRによって決定されたRNAアプタマーの立体構造。(中) RNAアプタマーの二次構造の模式図。黒丸は塩基対の形成を示している。2つのU-A-Uベーストリプル構造を形成する残基がオレンジのボックスと矢印でハイライトされている。(右上) U-A-Uベーストリプル構造の模式図。(右下) 本RNAアプタマーが結合することができる標的分子。アルギニンアミドについては化学構造も示した。

キャフォールドに連結し、その前後にハンマーヘッド型 (hammerhead : HH) リボザイムをそれぞれ配置する構成となっている (図2)。非常に安定な立体構造を形成するtRNAスキュフォールドは目的RNA配列をRNA分解酵素による分解から保護し、安定同位体標識含有培地で培養した大腸菌内で大量に転写、蓄積させることを可能にする。一方、大腸菌からの抽出後にMgCl₂を添加することで、HHリボザイムを活性化し、目的RNA配列の前後における自己切断を誘導する。これにより、目的RNAのみを均一な鎖長で切り出す機能を担う。切り出したRNAアプタマーを陰イオン交換カラムによって精製し、培養液1Lあたり、約1.2mgのRNAアプタマーを取得することに成功した (図2、右)。

大腸菌から調製した¹³C、¹⁵N標識アプタマーを非標識アルギニンアミドとともにHeLa細胞に導入した。導入後の生細胞は低融点アガロースゲルに包埋してNMR管内に固定し、常に新鮮な培地を送液するバイオリアクターシステム^[11, 13]を用いることで、生細胞を長時間維持した。また、バイオリアクターシステムを用いることで、測定中に細胞外に漏洩してくる微量のRNAも洗い流され、常に細胞内RNA由来のシグナルを検出して

いることが担保される。これらの条件で、細胞内RNAアプタマーの初めての2D SOFAST ¹H-¹⁵N HMQCおよび2D SOFAST ¹H-¹³C HMQCスペクトルの取得に成功した (図3)^[31]。その結果、生細胞内で観測された複数のピークが試験管内で観測されるアプタマー-リガンド複合体の化学シフトと一致することを確認した。これは、アプタマーが細胞内においてもリガンドとの複合体を形成していることを示唆している。一方、一部のシグナルについては、試験管内と細胞内で化学シフトに差が認められ (図3、下図 (e))、細胞内特有の溶液環境や分子混雑によって局所的な構造変化が生じている可能性が示唆された。

上記は、生きたヒト細胞中RNAの異種核二次元in-cell NMRスペクトル取得の初めての例となった。バックグラウンドとなる細胞内分子や培地由来のシグナルの重なりを避けつつ、¹⁵Nおよび¹³Cの軸に展開することで、RNAの各ピークの分解能が飛躍的に向上した。この結果、従来の一次元¹H-NMRどうしの比較では埋もれてしまっていた解析困難であったシグナル変化も検出可能となり (図3)、細胞内RNAの局所構造の差異についても議論できる可能性が見えてきた。今回の安定同位体RNAの調製手法は他の機能性RNAや非

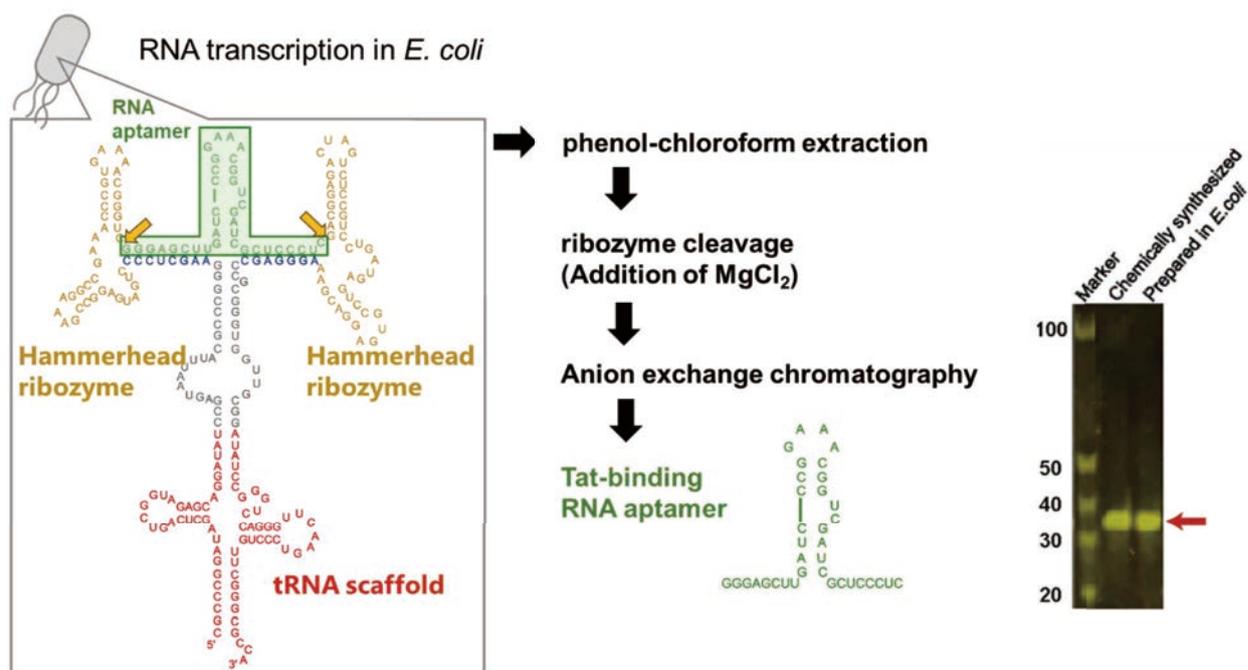


図2 大腸菌内からRNAアプタマーを大量調製するためのワークフロー。(左) tRNAスキュフォールド (赤) に連結することで、大腸菌内における目的RNA (緑) の分解を抑制する。大腸菌から抽出後にMgCl₂を添加することで目的RNAの両末端部分を2つのハンマーヘッド型リボザイム (黄) が切り出す。(右) 本法で調製したRNAアプタマーと固相合成法で調製したRNAアプタマーの変性アクリルアミドゲル電気泳動図。電気泳動図は文献31より掲載。

コードRNAにも応用可能であり、今後のin-cell NMR法を用いた核酸研究の方法論を拡張することが期待される。

3. 細胞内における RNA アプタマーとペプチドとの相互作用解析

Tatタンパク質に対するRNAアプタマーについて、さらに細胞内での挙動を解析するために、アプタマー結合部位であるTatのアルギニンリッチ領域由来の断片ペプチド (Tatペプチド) (図1、右下)を用いたin-cell NMR実験を実施した。過去の試験管内におけるNMR解析から、結合に伴って

アプタマー内部にU-A-Uベーストリプル構造が形成されることが、アプタマーとTatとの強固な結合の構造的起源であることを見いだしている (図1、中、右上)^[36]。そこで、ヒト生細胞内においても同様のベーストリプル構造が形成されるのか否かを検証することを試みた。

ここでは、RNAアプタマーとTatペプチドとともに非標識のまま化学合成し、HeLa細胞へ導入した。1D ^1H SOFAST技術^[8]によりイミノプロトンシグナルの領域のみを選択的にパルス照射することで、目的のイミノプロトンシグナルのみを高感度に検出した。得られたin-cell NMRスペクト

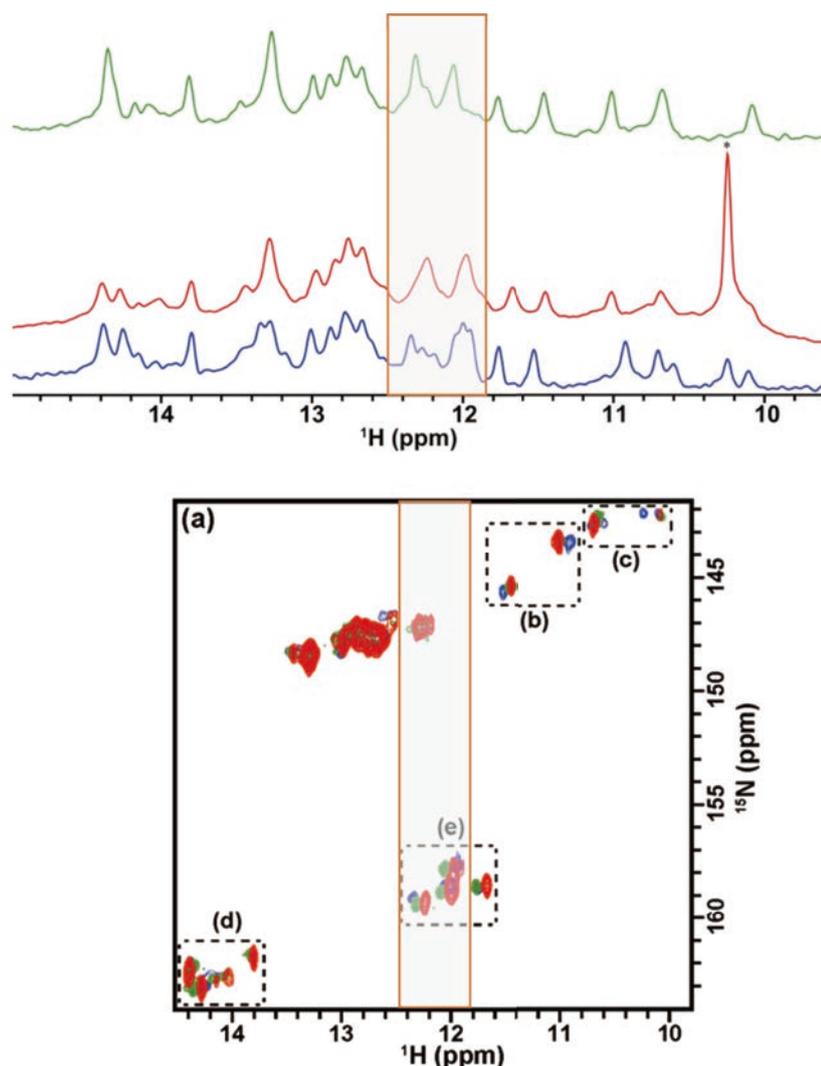


図3 試験管内およびヒト生細胞内における安定同位体標識RNAアプタマーの一次元および二次元NMRスペクトル。(上)一次元 ^1H -NMRスペクトル。(下)二次元 ^1H - ^{15}N HMQCスペクトル。青と緑のスペクトルは、それぞれ試験管内におけるアプタマー単独とアプタマー-アルギニンアミド複合体のスペクトル。赤のスペクトルは、アプタマーとアルギニンアミドを共導入したヒト生細胞内のアプタマーのin-cell NMRスペクトル。オレンジのボックスは一次元スペクトル上でシグナルの重複が激しく解析困難だが、二次元スペクトル上で重複が解消され、シグナル変化が観測可能になった領域の一例。下図(e)においては試験管内のフリー(青)、複合体(緑)いずれのスペクトルとも細胞内のスペクトル(赤)が一致していない。文献31より掲載。

ルは、試験管内におけるアプタマーと Tat ペプチドとの複合体のスペクトルパターンと良く一致していた (図4)。すなわち、ヒト生細胞内において複合体を形成しており、その複合体構造が両条件下でよく似ていることを意味している。加えて、13.75 ppm および 13.85 ppm に観測される2つの特徴的なイミノプロトンシグナルが、細胞内と試験管内の両方のスペクトルで一致した。この2つのピークは、アプタマーの U7 および U23 のイミノプロトンが2つの U-A-U ベーストリプル構造を形成した際に検出されるため、アプタマーと Tat ペプチドの複合体がヒト生細胞内においても同様のベーストリプル構造を形成していることを示している。

我々のこれまでの試験管内条件下での複合体研究では、2つの U-A-U ベーストリプル構造の形成は、もともと狭かった主溝を広げ、Tat の2つの重要なアルギニン残基が結合するための空間を作り出すことを示していた^[36, 37]。これがアプタマーによる高い Tat 捕捉活性の発揮に重要である。今回、ヒト生細胞内条件下でも、アプタマーと Tat ペプチドの複合体中に2つの U-A-U ベーストリプル構造が形成されていることが実証されたことで、細胞内条件下におけるアプタマーの高い Tat 捕捉活性を合理的に説明することができる^[34]。実際、このアプタマーが HeLa 細胞内においても Tat を不活化し、Tat による転写伸長促進を抑制できることを過去に見いだしている^[34]。これらの結果は、本アプタマーが試験管内とヒト生細胞内で本質的に同様の結合様式で標的分子

を認識している例を初めて実証した点に意義があり、また、in-cell NMR 法が核酸とペプチドとの結合様式や複合体構造に関する情報を直接取得するための方法論として有効であることを示した。

4. RNA 分解酵素阻害剤による細胞内 RNA の延命と生理的条件での in-cell NMR 測定

前項では、in-cell NMR 法を用いることで、RNA アプタマーと標的ペプチドとの複合体構造や相互作用様式に関する情報をヒト生細胞内で直接取得可能であることを示した。しかし、RNA を対象とする in-cell NMR 研究には、依然として大きな課題が存在する。その最も顕著なものが、RNA 分子の細胞内における急速な分解である。細胞質および核内には多数の RNA 分解酵素 (RNase) が存在し、外来性 RNA は導入直後から速やかに分解の標的となる。このため、タンパク質 in-cell NMR に比べても、RNA 試料の観測可能時間が著しく短く、とりわけ二次元測定をはじめとする長時間の測定への適用を困難にしていた。

従来は、RNA の分解を抑制し、細胞内 RNA を延命するために、リボースの 2' 位に化学修飾を施して分解耐性を付与する、または低温にする、などして測定してきた。我々はこの課題に対し、RNase 阻害剤カクテルを観察対象の RNA とともに細胞内へ共導入することで、RNA の細胞内寿命を大幅に改善し、生理的温度 (37°C) においても安定した in-cell NMR 測定を可能にした^[33]。ここでは、試験管内の実験で使用される SUPERase[®] In[™] RNase 阻害剤 (Thermo Fisher Scientific 社

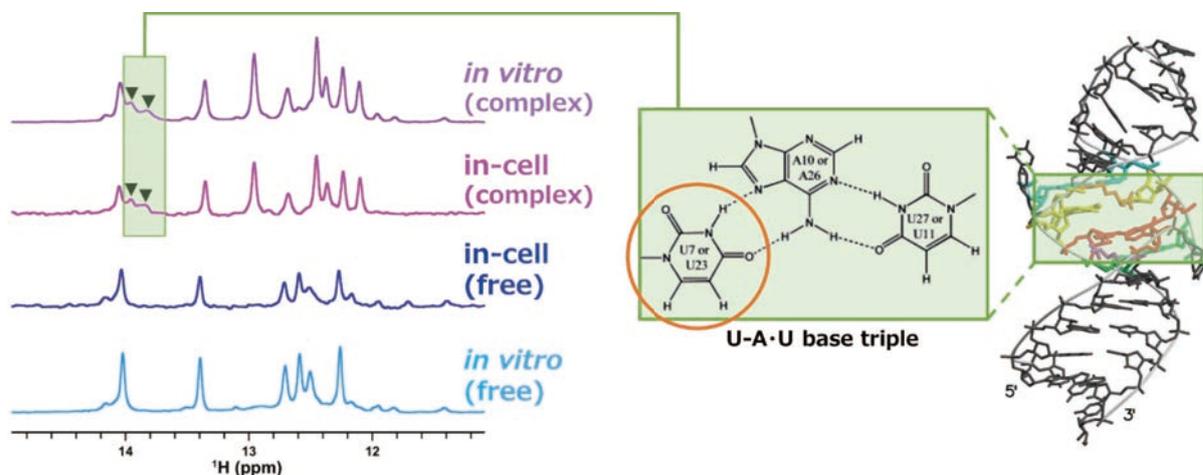


図4 試験管内およびヒト生細胞内における RNA アプタマー単独および Tat ペプチドとの複合体の NMR スペクトル。試験管内の複合体のスペクトル (1段目) において観測された2つの U-A-U ベーストリプル構造に由来する2本のイミノプロトンシグナル (黒矢印) がアプタマーとペプチドを共導入したヒト生細胞内のスペクトル (2段目) においても検出され、同構造がヒト生細胞内においても形成されていることが示された。

の商標、広範囲のRNaseを阻害可能)と、もう1種類のRNaseインヒビター(ニッポンジーン社、広範囲のRNaseを阻害可能)を混合し、各RNase阻害剤の濃度を1U/ μ LとしたRNase阻害剤カクテルを細胞へ導入した。このカクテルは、非共有結合的にRNase活性を阻害する。それぞれが異なるRNaseファミリーに作用するため、細胞内の多様なRNase活性に対して効果的に働くことが期待される。

阻害剤カクテルの効果を、まず細胞破砕液中で

検証した。超音波破碎して調製したHeLa細胞破砕液にRNase阻害剤カクテル、およびRNAアプタマーまたはアプタマーとペプチドの複合体を同時に加え、in-lysate NMRスペクトルの経時変化を観察した。この結果、アプタマー単独も複合体ともにRNase阻害剤カクテル存在下で、RNAのシグナル観測可能時間が延長されることが示された。

次に実際のヒト生細胞内における効果を検証した。RNAアプタマーまたはアプタマーとペプチド

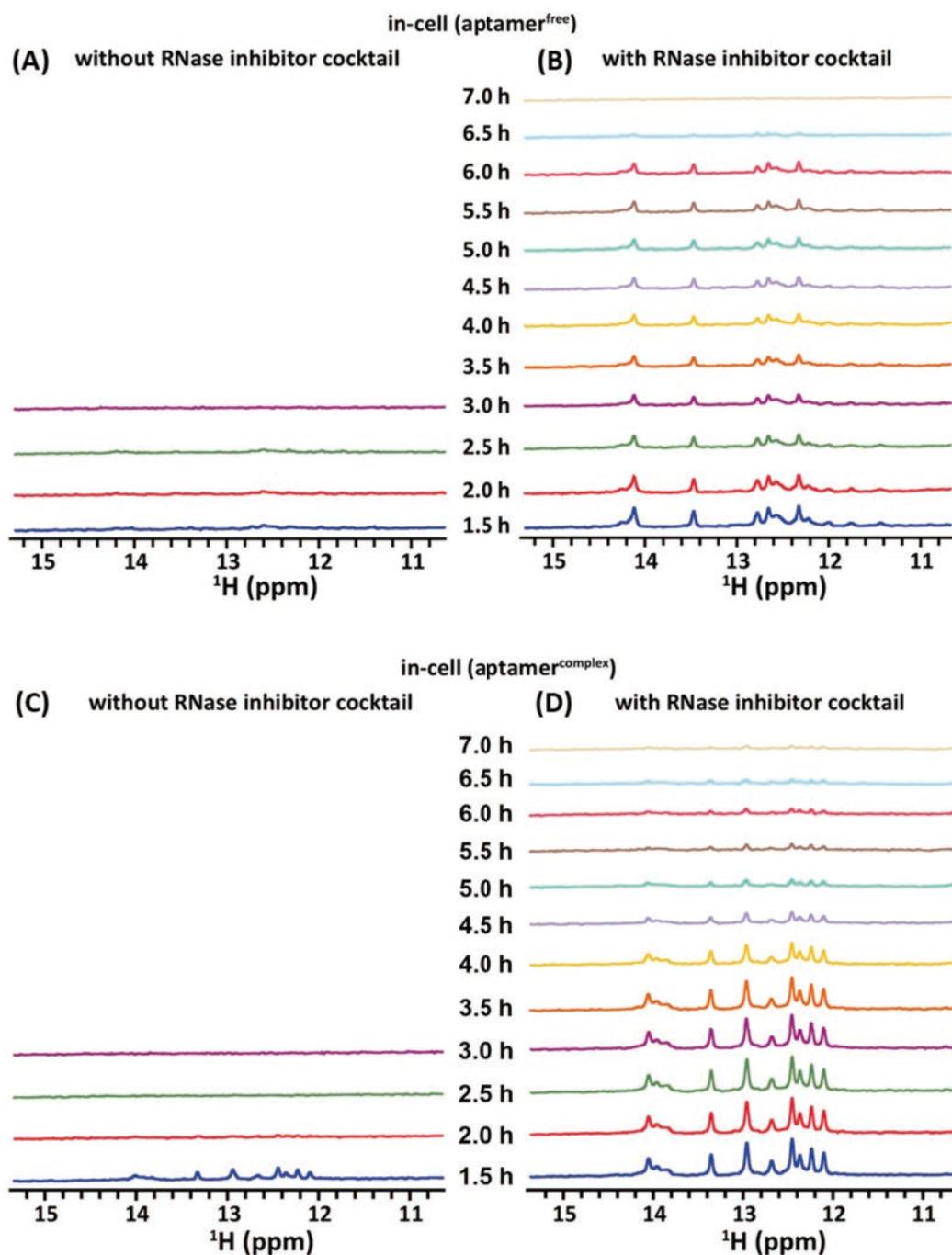


図5 37°CにおけるRNase阻害剤カクテルの有無による、ヒト生細胞内RNAのin-cell NMR測定可能時間の比較。(A, B)はRNAアプタマー単独、(C, D)はRNAアプタマーとTatペプチドとの複合体の結果。文献33より掲載。

の複合体とこのRNase 阻害剤カクテルを混合した後、HeLa 細胞へ導入した。これにより、阻害剤がRNAと同時に細胞内部へ移行し、導入直後の急速な分解を即時に抑制すると期待される。変性ゲル電気泳動による検証の結果、阻害剤存在下の方が全長RNAのバンドが長時間観察されることが示され、生細胞内においても分解が抑制されていることが示された。

最後に in-cell NMR スペクトルの経時変化を測定した。RNase 阻害剤カクテルを共導入した場合には、RNA アプタマー単独、複合体ともにシグナルが6時間後程度まで観測可能となった(図5)。特に、RNA アプタマー単独の場合には、延命効果が顕著であり、これまでは即座に分解されてしまうために生理的温度 37°Cにおける in-cell NMR スペクトルの測定そのものが不可能であったが、RNase 阻害剤カクテルの効果により、生理的温度での in-cell NMR スペクトルの取得が可能となった(図5、A、B)。RNase 阻害剤カクテルを用いることで、複合体についても 37°Cにおいて良好な in-cell NMR スペクトルが観測された。この結果、前述の2つのU-A-U ベーストリプル構造由来のイミノプロトンシグナル(13.8–13.9 ppm)が、37°Cの生細胞内でも明瞭に観測され、37°Cのヒト生細胞内においても、試験管内と同様の標的認識機構でTatを捕捉していることが明らかになった(図5、C、D)。

本手法によって 37°Cのヒト生細胞内において、化学修飾を施していないRNAの in-cell NMR スペクトルが取得可能となった。RNase 阻害剤カクテルと観察対象RNAを共導入するという本手法は、観察対象のRNAに直接改変を加える必要がなく、適用が非常に容易である。また、アプタマーに限らず miRNA、siRNA、長鎖非コードRNAなど、多様なRNA種に適用可能である。細胞内RNAの寿命が延長されたことにより、in-cell NMR 実験においても、より長い測定時間を要する多様な NMR 測定手法が適用できる可能性が広がった。

5. 細胞内における核酸の

塩基対開裂ダイナミクス解析

筆者らは近年、塩基対の開閉運動に代表される核酸の動的構造情報を、in-cell NMR法によって解析できることを報告した^[27]。核酸の塩基対開閉運動は、タンパク質・代謝産物・医薬分子などとの相互作用に関与する重要な要素として注目されている^[38]。しかし、これまでの研究の多くは試験管内での解析に限られ、生細胞内で塩基対開裂ダイナミクスを直接評価する手法は存在しなかった。筆者らはこの課題に対し、in-cell NMR法を適用することで、ヒト生細胞内における核酸塩基対の開裂頻度を解析した。

本稿では、抗がん剤の標的として注目される、ヒト染色体末端テロメア領域に由来するDNA配

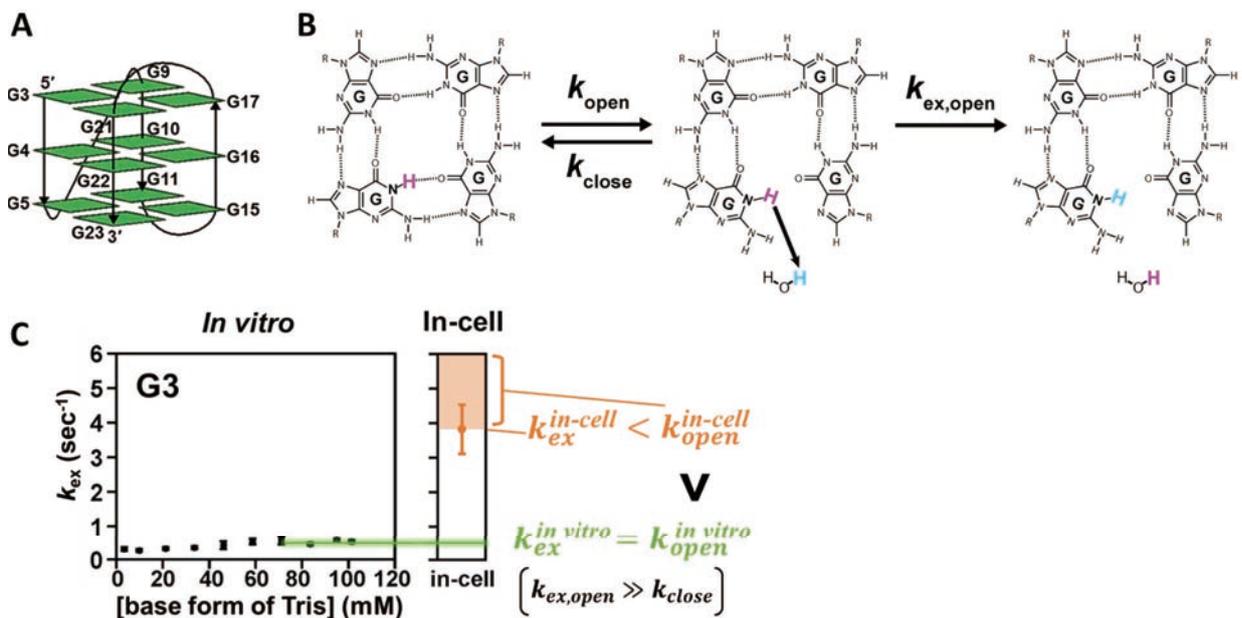


図6 (A) teloGQ構造の模式図。四角形はグアニン塩基を示している。(B) G-G塩基対の開裂に伴うイミノプロトンと水プロトンの交換スキーム。(C) 細胞内と試験管内におけるteloGQ中のG-G塩基対開裂速度の比較。ここでは12個のG-G塩基対の内、G3を含む塩基対の結果を代表として示す。一部、文献27より掲載。

列が形成するグアニン四重鎖 (GQ) 構造、すなわち teloGQ (図6A) を解析した事例を紹介する。グアニン (G) に富むテロメアDNAは、フーグスティーン型 G-G 塩基対によって安定な GQ 構造を形成することが知られている (図6A)。試験管内条件では、GQ 構造の G-G 塩基対は開裂しにくい、非常に安定な構造である。一方、生細胞内では GQ 構造が形成され、ほどけることで生命現象が制御されると考えられているものの、その細胞内ダイナミクスに関する実験的情報は限られていた。そこで筆者らは、in-cell NMR法を用いてヒト生細胞中における teloGQ の G-G 塩基対開裂頻度を解析した。

塩基対内のイミノプロトンは、水素結合が一時的に失われ塩基対が開いた状態のみ水分子中のプロトンと交換可能である。したがって、イミノプロトンと水との交換速度 k_{ex} を測定することで、塩基対開裂速度 k_{open} と塩基対再形成速度 k_{close} を見積もることができる^[39] (図6B)。

teloGQ 中の各 G-G 塩基対について、細胞内での交換速度 $k_{ex}^{in-cell}$ と試験管内での開裂速度 $k_{open}^{in vitro}$ を比較したところ、すべての G-G 塩基対において $k_{ex}^{in-cell}$ が $k_{open}^{in vitro}$ を上回ることが明らかとなった (図6C)。細胞内では常に $k_{open}^{in-cell} > k_{ex}^{in-cell}$ の関係が成り立つため、この結果はすべての G-G 塩基対について $k_{open}^{in vitro} < k_{open}^{in-cell}$ であることを意味する (図6C)。すなわち、細胞内では試験管内よりも塩基対がより高頻度で開裂していることが示された^[27]。

さらに、さまざまな分子込み合い環境を再現した条件で k_{open} を測定したところ、正電荷を持つタンパク質存在下でのみ k_{open} が顕著に増大した。この結果は、生細胞内でも正電荷タンパク質が負電荷の核酸分子と相互作用することで、塩基対開裂が促進されている可能性を示唆している^[27]。

以上の知見から、細胞内では G-G 塩基対の開裂頻度が増大しており、GQ 構造の部分的な開裂が試験管内よりも頻繁に生じていることが示唆される。これは、GQ 構造がほどけ始める構造的な起点が細胞内で高頻度に形成されている可能性を示唆する。また、生細胞内では部分的に塩基対が開裂した動的で多様な GQ 構造が存在している可能性を示す。その結果、細胞内では種々の GQ 結合タンパク質に対し、部分的にほどけた特殊な GQ 構造が相互作用部位としてより高い頻度で提示されている可能性がある。このように、細胞内における GQ 依存的な分子認識や制御機構が、こ

れまで認識されていたよりも動的な過程であることを想起させる。

6. おわりに

本稿では、in-cell NMR法を用いることで、特に核酸分子について、ヒト生細胞内における立体構造、ダイナミクス、相互作用の解析について概説した。核酸の in-cell NMR 実験において課題となる安定同位体標識 RNA の大量調製法の確立や細胞内において RNA の分解を抑制するための方法論の開発について解説し、得られた細胞内核酸の相互作用様式や複合体構造に関する知見、構造ダイナミクスに関する知見を紹介し、その意義や応用可能性についても触れた。

In-cell NMR法を用いたヒト生細胞内の核酸の研究は8年以上前に始まったが、未ださらなる技術革新を必要としている。これまで、生きたヒト細胞内で in-cell NMR スペクトル測定に成功した核酸の鎖長は50塩基未満であり、今後はより長鎖の核酸についても適用していくことが求められる。また、導入された核酸の細胞内濃度はおよそ 5–20 μ M であり、生理的な核酸濃度を考えると、依然としてやや高いと言えるだろう。加えて、細胞内核酸について得られる情報の種類についても拡張していく必要がある。例えば、NOE測定を用いた立体構造解析や、各種緩和測定法を用いたダイナミクス解析、DOSY法による拡散運動解析などは、今後の注目領域となる可能性が高い。

これらの課題は、部位特異的な ^{13}C および ^{15}N 標識や重水素化を組み合わせることで、ある程度改善される可能性がある。加えて、 ^{19}F 標識の利用も強力なアプローチであることが近年示されつつある。 ^{19}F 標識はこれまで、グアニン四重鎖構造の異なるトポロジーの識別^[21] やリガンド結合の解析^[40] に用いられてきた。これらの標識技術は、より長鎖、より低濃度の細胞内核酸について、構造の詳細、ダイナミクス、相互作用に関する有益な知見をもたらす可能性を有している。

また、in-cell NMR法の低い測定感度を根本的に改善するために、近年急速な発展を遂げている動的核偏極 (DNP) NMR技術の応用にも期待が高まっている。固体状態 DNP NMRは、アンチセンスオリゴヌクレオチド医薬品と標的 mRNA との相互作用や、グアニン四重鎖構造と四重鎖安定化リガンドとの相互作用を凍結したヒト細胞内やミトコンドリア内で検出するために利用された実

績がある^[24, 29]。これらの技術は外部から核酸を導入することなく、内在性の核酸を検出可能にしており、今後さらなる進展とin-cell NMR法への応用が期待される。

我々の今後の目標は、生きたヒト細胞内で、特定の細胞内区画やオルガネラにおいて、また細胞周期の特定のタイミングにおいて、核酸の構造、ダイナミクス、および相互作用について、高解像度の知見を得ることである。この目標を達成するために、今後もin-cell NMR法の手法および装置の継続的な革新が不可欠である。

謝 辞

本稿で紹介したバイオリクターシステムの導入に際し、ニューヨーク州立大学アルバニー校 Alexander Shekhtman 教授、理化学研究所生命医科学研究センター 嶋田一夫チームリーダー（当時、東京大学大学院薬学系研究科 教授）、千葉大学大学院薬学研究院 西田紀貴教授（当時、東京大学大学院薬学系研究科 准教授）に技術的サポートおよびご助言を賜りました。また、イミノプロトン-水プロトン交換解析法の導入に際し、当時、慶尚大学校に所属されていた故 Joon-Hwa Lee 教授に技術的サポートおよびご助言を賜りました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

引用文献

- [1] Zhou, H.-X., Rivas, G., & Minton, A.P. Macromolecular Crowding and Confinement: Biochemical, Biophysical, and Potential Physiological Consequences. *Annu. Rev. Biophys.* **37**, 375-397 (2008).
- [2] Hänsel, R., Luh, L.M., Corbeski, I., Trantirek, L., & Dötsch, V. In-Cell NMR and EPR Spectroscopy of Biomacromolecules. *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 10300-10314 (2014).
- [3] Nishida, N., Ito, Y., & Shimada, I. In situ structural biology using in-cell NMR. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* **1864**, 129364 (2020).
- [4] Luchinat, E., Cremonini, M., & Banci, L. Radio Signals from Live Cells: The Coming of Age of In-Cell Solution NMR. *Chem. Rev.* **122**, 9267-9306 (2022).
- [5] Inomata, K., Ohno, A., Tochio, H., Isogai, S., Tenno, T., Nakase, I., Takeuchi, T., Futaki, S., Ito, Y., Hiroaki, H., & Shirakawa, M. High-resolution multi-dimensional NMR spectroscopy of proteins in human cells. *Nature* **458**, 106-109 (2009).
- [6] Ogino, S., Kubo, S., Umemoto, R., Huang, S., Nishida, N., & Shimada, I. Observation of NMR Signals from Proteins Introduced into Living Mammalian Cells by Reversible Membrane Permeabilization Using a Pore-Forming Toxin, Streptolysin O. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 10834-10835 (2009).
- [7] Theillet, F.-X., Binolfi, A., Bekei, B., Martorana, A., Rose, H.M., Stuver, M., Verzini, S., Lorenz, D., Van Rossum, M., Goldfarb, D., & Selenko, P. Structural disorder of monomeric α -synuclein persists in mammalian cells. *Nature* **530**, 45-50 (2016).
- [8] Schanda, P., Kupče, Ě., & Brutscher, B. SOFAST-HMQC Experiments for Recording Two-dimensional Deteronuclear Correlation Spectra of Proteins within a Few Seconds. *J. Biomol. NMR* **33**, 199-211 (2005).
- [9] Sakakibara, D., Sasaki, A., Ikeya, T., Hamatsu, J., Hanashima, T., Mishima, M., Yoshimasu, M., Hayashi, N., Mikawa, T., Wälchli, M., Smith, B.O., Shirakawa, M., Güntert, P., & Ito, Y. Protein structure determination in living cells by in-cell NMR spectroscopy. *Nature* **458**, 102-105 (2009).
- [10] Sharaf, N.G., Barnes, C.O., Charlton, L.M., Young, G.B., & Pielak, G.J. A bioreactor for in-cell protein NMR. *J. Magn. Reson.* **202**, 140-146 (2010).
- [11] Kubo, S., Nishida, N., Udagawa, Y., Takarada, O., Ogino, S., & Shimada, I. A Gel - Encapsulated Bioreactor System for NMR Studies of Protein-Protein Interactions in Living Mammalian Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **52**, 1208-1211 (2013).
- [12] Inomata, K., Kamoshida, H., Ikari, M., Ito, Y., & Kigawa, T. Impact of cellular health conditions on the protein folding state in mammalian cells. *Chem. Commun.* **53**, 11245-11248 (2017).
- [13] Breindel, L., DeMott, C., Burz, D.S., & Shekhtman, A. Real-Time In-Cell Nuclear Magnetic Resonance: Ribosome-Targeted Antibiotics Modulate Quinary Protein Interactions. *Biochemistry* **57**, 540-546 (2018).
- [14] Banci, L., Barbieri, L., Bertini, I., Luchinat, E., Secci, E., Zhao, Y., & Aricescu, A.R. Atomic-resolution monitoring of protein maturation in live human cells by NMR. *Nat. Chem. Biol.* **9**, 297-299 (2013).
- [15] Mochizuki, A., Saso, A., Zhao, Q., Kubo, S., Nishida, N., & Shimada, I. Balanced Regulation of Redox Status of Intracellular Thioredoxin Revealed by in-Cell NMR. *J. Am. Chem. Soc.* **140**, 3784-3790 (2018).
- [16] Hänsel, R., Foldynová-Trantírková, S., Löhr, F., Buck, J., Bongartz, E., Bamberg, E., Schwalbe, H., Dötsch, V., & Trantírek, L. Evaluation of Parameters Critical for Observing Nucleic Acids Inside Living *Xenopus laevis* Oocytes by In-Cell NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 15761-15768 (2009).
- [17] Kano, F., Nakatsu, D., Noguchi, Y., Yamamoto, A., & Murata, M. A Resealed-Cell System for Analyzing Pathogenic Intracellular Events: Perturbation of Endocytic Pathways under Diabetic Conditions. *PLoS ONE* **7**, e44127 (2012).
- [18] Yamaoki, Y., Kiyoshi, A., Miyake, M., Kano, F., Murata, M., Nagata, T., & Katahira, M. The first successful observation of in-cell NMR signals of DNA and RNA in living human cells. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20**, 2982-2985 (2018).
- [19] Nagata, T., Yamaoki, Y., & Katahira, M. In-Cell NMR of Nucleic Acids in Living Human Cells: Structure, Dynamics, and Interactions. (2025).
- [20] Dzatko, S., Krafčikova, M., Hänsel-Hertsch, R., Fessl, T., Fiala, R., Loja, T., Krafčik, D., Mergny, J., Foldynová-Trantírková, S., & Trantírek, L.

- Evaluation of the Stability of DNA i-Motifs in the Nuclei of Living Mammalian Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 2165-2169 (2018).
- [21] Bao, H.-L., Liu, H., & Xu, Y. Hybrid-type and two-tetrad antiparallel telomere DNA G-quadruplex structures in living human cells. *Nucleic Acids Res.* **47**, 4940-4947 (2019).
- [22] Sakamoto, T., Yamaoki, Y., Nagata, T., & Katahira, M. Detection of parallel and antiparallel DNA triplex structures in living human cells using in-cell NMR. *Chem. Commun.* **57**, 6364-6367 (2021).
- [23] Ghosh, A., Harnos, J., Stadlbauer, P., Sponer, J., Lenarcic Zivkovic, M., & Trantirek, L. Structural basis of bis-quinolinium ligands binding to quadruplex-duplex hybrids from *PIM1* oncogene. *Nucleic Acids Res.* **53**, gkaf894 (2025).
- [24] Krafčíková, M.D., Beriashvili, D., Bahri, S., Bergmeijer, M., Howes, S.C., Gurinov, A., Förster, F.G., Folkers, G.E., & Baldus, M. A. DNP-Supported Solid-State NMR Approach to Study Nucleic Acids In Situ Reveals Berberine-Stabilized Hoogsteen Structures in Mitochondria. *Angew. Chem. Int. Ed.* **64**, e202424131 (2025).
- [25] Cheng, M., Qiu, D., Tamon, L., Ištvančková, E., Víšková, P., Amrane, S., Guédin, A., Chen, J., Lacroix, L., Ju, H., Trantirek, L., Sahakyan, A.B., Zhou, J., & Mergny, J., Thermal and pH Stabilities of i-DNA: Confronting in vitro Experiments with Models and In-Cell NMR Data. *Angew. Chem. Int. Ed.* **60**, 10286-10294 (2021).
- [26] Víšková, P., Ištvančková, E., Ryneš, J., Džatko, Š., Loja, T., Živković, M.L., Rigo, R., El-Khoury, R., Serrano-Chacón, I., Damha, M.J., González, C., Mergny, J.-L., Foldynová-Trantírková, S., & Trantirek, L., In-cell NMR suggests that DNA i-motif levels are strongly depleted in living human cells. *Nat. Commun.* **15**, 1992 (2024).
- [27] Yamaoki, Y., Nagata, T., Kondo, K., Sakamoto, T., Takami, S., & Katahira, M. Shedding light on the base-pair opening dynamics of nucleic acids in living human cells. *Nat. Commun.* **13**, 7143 (2022).
- [28] Krafcikova, M., Dzatko, S., Caron, C., Granzhan, A., Fiala, R., Loja, T., Teulade-Fichou, M.-P., Fessl, T., Hänsel-Hertsch, R., Mergny, J.-L., Foldynova-Trantirkova, S., & Trantirek, L., Monitoring DNA-Ligand Interactions in Living Human Cells Using NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **141**, 13281-13285 (2019).
- [29] Schlagnitweit, J., Friebe Sandoz, S., Jaworski, A., Guzzetti, I., Aussenac, F., Carbajo, R.J., Chiarparin, E., Pell, A.J., & Petzold, K., Observing an Antisense Drug Complex in Intact Human Cells by in-Cell NMR Spectroscopy. *ChemBioChem* **20**, 2474-2478 (2019).
- [30] Broft, P., Dzatko, S., Krafcikova, M., Wacker, A., Hänsel-Hertsch, R., Dötsch, V., Trantirek, L., & Schwalbe, H., In-Cell NMR Spectroscopy of Functional Riboswitch Aptamers in Eukaryotic Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **60**, 865-872 (2021).
- [31] Eladl, O., Yamaoki, Y., Kondo, K., Nagata, T., & Katahira, M., Detection of interaction between an RNA aptamer and its target compound in living human cells using 2D in-cell NMR. *Chem. Commun.* **59**, 102-105 (2023).
- [32] Eladl, O., Yamaoki, Y., Kondo, K., Nagata, T., & Katahira, M., Complex Formation of an RNA Aptamer with a Part of HIV-1 Tat through Induction of Base Triples in Living Human Cells Proven by In-Cell NMR. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 9069 (2023).
- [33] Eladl, O., Yamaoki, Y., Nagata, T., & Katahira, M., In-cell NMR spectra of chemically unmodified RNA at physiological temperature with extended lifetime through RNase inhibitor cocktail in living human cells. *Sci. Rep.* **15**, 36397 (2025).
- [34] Yamamoto, R., Katahira, M., Nishikawa, S., Baba, T., Taira, K., & Kumar, P.K.R., A novel RNA motif that binds efficiently and specifically to the Tat protein of HIV and inhibits the *trans*-activation by Tat of transcription *in vitro* and *in vivo*. *Genes Cells* **5**, 371-388 (2000).
- [35] Nelissen, F.H.T., Leunissen, E.H.P., Van De Laar, L., Tessari, M., Heus, H.A., & Wijmenga, S.S., Fast production of homogeneous recombinant RNA-towards large-scale production of RNA. *Nucleic Acids Res.* **40**, e102-e102 (2012).
- [36] Matsugami, A., Kobayashi, S., Ouhashi, K., Uesugi, S., Yamamoto, R., Taira, K., Nishikawa, S., Kumar, P.K.R., & Katahira, M., Structural Basis of the Highly Efficient Trapping of the HIV Tat Protein by an RNA Aptamer. *Structure* **11**, 533-545 (2003).
- [37] Harada, K., Aoyama, S., Matsugami, A., Kumar, P.K.R., Katahira, M., Kato, N., & Ohkanda, J., RNA-Directed Amino Acid Coupling as a Model Reaction for Primitive Coded Translation. *ChemBioChem* **15**, 794-798 (2014).
- [38] Ganser, L.R., Kelly, M.L., Herschlag, D., & Al-Hashimi, H.M., The roles of structural dynamics in the cellular functions of RNAs. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **20**, 474-489 (2019).
- [39] Guéron, M., & Leroy, J.-L., Studies of base pair kinetics by NMR measurement of proton exchange. *Methods Enzymol.* **261**, 383-413 (1995).
- [40] Krafčík, D., Ištvančková, E., Džatko, Š., Víšková, P., Foldynová-Trantírková, S., & Trantirek, L., Towards Profiling of the G-Quadruplex Targeting Drugs in the Living Human Cells Using NMR Spectroscopy. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 6042 (2021).



山置 佑大 (やまおき・ゆうだい)

2016年 京都大学 エネルギー科学研究科 修了 (エネルギー科学博士)
 2016年 京都大学 エネルギー理工学研究所 博士研究員
 2020年 京都大学 エネルギー理工学研究所 助教 (現職)



永田 崇 (ながた・たかし)

1999年 横浜国立大学 工学研究科 修了 博士 (工学)
 1998年 ロックフェラー大学 生物物理学研究室 研究員
 2002年 理化学研究所 ゲノム科学研究センター 研究員
 2006年 横浜市立大学 国際総合科学部 助教
 2011年 京都大学 エネルギー理工学研究所 助教 / 准教授 (現職)



片平 正人 (かたひら・まさと)

1989年 大阪大学 理学研究科博士課程 修了
 1989年 オランダ・ユトレヒト大学 HFSP ポスドク
 1992年 横浜国立大学 工学研究科 講師・准教授
 2005年 横浜市立大学 総合理学研究科 教授
 2010年 京都大学 エネルギー理工学研究所 教授
 2024年 同所長 (現職)
 2025年 京都大学 副理事 (現職)

核スピン超偏極 (DNP) 入門

大阪大学・蛋白質研究所

松木 陽

yoh@protein.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

NMR分光法の最大の特長は、個々の原子を区別できる超高分解能にある。おかげでタンパク質の3次元構造決定から材料の局所構造解析まで、他の分光法では得られない詳細な情報を得られる。この裏返しとして、NMRは原理的に低感度という課題を抱えており、測定時間の長さや必要試料量の多さが、応用の現場で重荷になることがある。

本稿は、この感度問題を劇的に改善する動的核スピン偏極 (Dynamic Nuclear Polarization : DNP) 法について、その基礎から応用、今後の展望まで概観するもので、第64回NMR討論会 (2025年、沖縄) のチュートリアルコースでお話ししたことの備忘録的なものである。DNPは、電子スピンの大きな偏極 (熱平衡もしくは非平衡偏極) を核スピンの移動させることで、NMR信号を3桁ほど増強できる発展途上の技術である。近年の技術革新により、低温マジック角試料回転 (MAS) 条件下での高磁場DNPが実用的になり、非標識生体分子や天然物の構造研究にも新たな可能性をもたらしている。

2. NMRの低感度性

2.1 エネルギー分裂の小ささと熱平衡偏極

NMRの低感度性を理解するには、まず観測対象である核スピンのゼーマン分裂がすごく小さいことを認識しよう。核スピン ($I=1/2$) を静磁場 B_0 中に置くと、そのゼーマンエネルギーの分裂幅は $\Delta E = \gamma \hbar B_0$ となる (γ は核磁気回転比、 \hbar はプランク定数)。

具体例として、最も感度の高い ^1H 核を考えると、 $B_0 = 16.4\text{T}$ (700 MHz分光計) の磁場中で、 $\Delta E \approx 2.9 \times 10^{-6}\text{eV}$ となる。これを他の分光法と比較すると、その小ささが際立つ：

- ・可視光 ($\lambda \sim 500\text{nm}$) : 約2eV
- ・赤外線 (分子振動) : 約0.2eV

- ・マイクロ波 (電子スピン) : 約 $40 \times 10^{-6}\text{eV}$ (9 GHz)

- ・ラジオ波 (核スピン) : 約 $3 \times 10^{-6}\text{eV}$ (700 MHz)

すなわち、NMRのエネルギー分裂は可視光吸収分光の約70万分の1であり、きわめて低エネルギーの分光法だとわかる。

室温 $T \sim 300\text{K}$ における熱エネルギー $kT \approx 0.026\text{eV}$ は核スピンのゼーマン分裂よりはるかに大きく、上下の準位はほぼ等しく占有される。ボルツマン分布から、偏極度 p は、

$$p = \tanh(\Delta E/2kT) \approx \Delta E/2kT \quad (\Delta E \ll kT \text{ の場合})$$

で、16.4 T の ^1H 核では $p \approx 0.00005$ 、わずか0.005%である。これは試料管中に10万個の核スピンがあっても、ほとんどが上向きと下向きで打ち消し合い、実効的にNMR信号に寄与するのは約5個に過ぎない、と表現できる。これがNMRの本質的な低感度性の第1の要因である。

2.2 緩和機構—自然放出の不在

NMRの低感度性には、緩和機構に関するもう一つ重要な側面がある。一般に、励起状態からの緩和には自然放出 (spontaneous emission) と誘導放出 (stimulated emission) がある。アインシュタインのA係数は自然放出の確率を表し、遷移周波数 ω の3乗に比例する ($A \propto \omega^3$)。だから可視光領域 ($\omega = 10^{15}\text{rad/s}$) では自然放出が支配的で、励起寿命は典型的にはナノ秒である。一方NMR領域 ($\omega = 10^9\text{rad/s}$) では、A係数は可視光の 10^{17} 分の1となり、事実上ゼロに等しい。

したがって、励起された核スピンは自発的には緩和できず、周囲の揺動磁場との相互作用、すなわち一種の誘導放出・非輻射的な緩和に依存せざるを得ない。この揺動磁場は、周囲の他の核スピンや不対電子、分子運動などによって生成される、言ってみれば環境雑音みたいな存在で、この雑音の周波数の中に、遷移周波数 ω に近い周波数

成分があって初めて、これに誘導されて核スピンは緩和できることになる。溶液中では分子の並進・回転運動が、双極子相互作用による揺動磁場を生成するが、その実効性は分子運動の相関時間 τ_c に依存するような、スペクトル密度関数に制限されている。こういう事情で、核スピンの縦緩和時間 T_1 は、秒から数十秒、場合によっては数分にも達する。これは測定の繰り返し速度を制限し、unit-time sensitivityを著しく低下させる。これがNMRの低感度性の第2の要因である。

2.3 横緩和と高分解能性

一方、横緩和時間 T_2 については、NMRに有利に働く側面がある。可視光吸収などの電子遷移では、励起状態の(自然放出による)短い寿命に加え、項間交差、振動緩和、溶媒和ダイナミクス、電子-格子相互作用など、多様な緩和経路が存在する。その結果、吸収線幅は典型的に数百 cm^{-1} (\sim THz)となり、遷移の軌道の種類などの見分けはつくが、スペクトル分解能はごく限られる。これに対しNMRの低エネルギー領域では、有効な緩和経路が著しく限られる。溶液中や高速試料回転(MAS)条件下では、双極子相互作用や化学シフト異方性などの空間依存性相互作用が時間平均化されるし、重水素化などケミカルな手法で人為的に環境雑音を減らす手段まで存在する。結果、 T_2 は T_1 と同程度まで長くなり得る。

つまり、良い点とは、NMRはコヒーレンスが突出して長い分光法であり(FIDが長い)、フーリエ変換後には突出して細い信号を与える分光法だということである。線幅 $\Delta\nu \approx 1/(\pi T_2)$ は、典型的にHzから100 Hzで、これは可視光吸収スペクトルの線幅(\sim THz)の約 10^{12} 分の1という細さである。この超高分解能により、NMRは分子内の個々の原子を区別でき、複雑な(生体)高分子の構造決定までもが可能になる。つまり、NMRの低エネルギー性は、「低感度」と「高分解能」を同時にもたらす。これはもう表裏一体なのであって、諦めるしかないのだろうか。

2.4 感度向上への歴史的アプローチ

いや、そうとは限らない(研究者の思考回路はいつもこれである)。NMRの低感度性を少しでも改善しようという挑戦は、この分野の発展を通じて常に中心的な課題であり続けてきた。歴史的には以下のようなアプローチがある：

1. 1960年代：CW→pulse & FT NMR：時間感度は約10倍向上。Richard Ernstはこれで1991年にノーベル化学賞を受賞
2. 1980年代：CP, INEPT ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$)：高感度核から低感度核への偏極移動で、感度は約4倍向上
3. 1990年代：TROSY：線幅が数倍細くなり、感度も数倍向上と言える
4. 2000年代：High B_0 ：磁場強度向上(たとえば $\omega_{\text{H}}/2\pi = 300 \rightarrow 900$ MHz)で約5倍向上
5. 2000年代：Cryo-probe：検出系の冷却により熱雑音を下げ、感度向上約4倍
6. 2010年代：DNP ($e \rightarrow ^1\text{H}$)：うまくいくと1,000倍以上の信号増強

DNPは、CPやINEPTのアプローチと似ている。高感度スピンとして電子スピンを使うわけだ。

3. DNPの歴史的発展

3.1 1953年—Overhauserの予言とSlichterによる実証

DNPの源流をたどると、1953年、冷戦初期のイリノイ大学、当時の最先端物理学研究の拠点のひとつにたどりつく。Albert Overhauserは、1951年にカリフォルニア大学バークレー校で固体物理学の大御所Charles Kittelのもと、伝導電子の緩和理論で学位を取得したばかりの若き理論物理学者であった。イリノイ大学に職を得た彼は、金属中の伝導電子スピンをマイクロ波で飽和させると、電子-核間のハイパーファイン相互作用を介した交差緩和により、核スピんに超偏極が生じるという大胆な理論予測を1953年のPhysical Reviewに発表した^[1]。

この理論は1953年のAmerican Physical Societyの会合でも発表されたが、聴衆(Purcell, Bloch, Rabi, Bloembergen, Abragam)の反応はおしなべて懐疑的だった。「電子を飽和させる(=加熱すること)で、どうして核を冷却できるのか」、電子と核のゼーマン周波数は約660倍も異なるのに、その間を「ななめに」緩和するような環境雑音が本当に存在するのか、などの批判があったようだ。しかし、Overhauser自身は確固たる物理的基盤があると考えていた。伝導電子の高速運動は、十分高周波の揺動磁場成分を生成するし、かつハイパーファイン相互作用が存在する限り、交差緩和は確かに起こり得るのである。

Charles Slichterは、当時イリノイ大学で金属自由電子のESRを研究していた実験物理学者。SlichterはOverhauserが博士論文の内容について話した「10分セミナー」後の立ち話で、OverhauserからDNPのアイデアを初めて聞いたという。最初はホントかウソか試してやろうくらいに思ったのに、実験を繰り返すうちに段々と「絶対に証明してやろう」に変わっていった、と書いている^[2]。

実験は困難を極めた。高周波マイクロ波(理想的には数10 GHz)は金属表面から深くには浸透しないため、解析には使えない。Slichterらは、超低周波の80 MHzという「マイクロ波」で電子スピンを励起する戦略を採った。この周波数なら、金属中への浸透深度は十分だった。1953年8月10日、実験は成功。金属リチウムのNMR信号が、マイクロ波照射によって劇的に増強される様子がオシロスコープに映し出された瞬間、大学院生Tom Carverは「大きな声で叫んだ(Tom let out a yell!)」とある。この観測についての原稿はわずか1週間後、8月17日に受理されている。当時、原稿は郵送だろうから、加味するとほんの4~5日で書き上げたことになる。このへんからも当時の興奮を感じ取れる。

3.2 1955年—Solomon方程式による一般化

Overhauserの理論は、金属の伝導電子という特殊な系を考察したものであった。この制約を取り除き、DNPを一般的な分子系へと拡張したのがSolomonである。Solomonは1955年のPhysical Reviewに、電子-核双極子相互作用のもとの偏極移動を記述する一般理論を発表した^[3]。いわゆるSolomon方程式は、2つのスピンI(核)とS(電子)が双極子相互作用で結合している系で核磁化の変化を次のように表す：

$$dI_z/dt = -(W_0 + 2W_1 + W_2)(I_z - I_0) - (W_2 - W_0)(S_z - S_0)$$

ここで、 W_0 、 W_1 、 W_2 はそれぞれゼロ量子、1量子、2量子遷移の緩和レートであり、スペクトル密度関数 $J(\omega)$ を用いて以下のように表される：

$$W_0 = k \cdot J(\omega_I - \omega_S, \tau_c)$$

$$W_1 = (3/2) k \cdot J(\omega_I, \tau_c)$$

$$W_2 = 6k \cdot J(\omega_I + \omega_S, \tau_c)$$

ここで、 k は双極子相互作用強度に関する定数である。スペクトル密度関数 $J(\omega)$ は、揺動磁場の周波数成分を表し、分子運動の相関時間 τ_c を

用いて、

$$J(\omega, \tau_c) = \tau_c / (1 + \omega^2 \tau_c^2)$$

と記述される(簡単な場合)。

このとき、定常状態におけるNMR信号の増強度(エンハンスメント)は、次のようになる：

$$\epsilon = I_z/I_0 = -\xi \cdot f \cdot s (\gamma_S / \gamma_I)$$

ここで、 s は電子スピンの飽和因子と言い($s=1$ で完全飽和)、 f はリーケッジ因子と言われ、核スピンの全緩和経路のうち、電子スピンが関与する割合である。それぞれ、できる限り強いマイクロ波 B_1 を使い、高めの電子スピン濃度の試料を使うなど、実験条件を設計して1に近づけることができる。一方 ξ はカップリング因子と言い、外部磁場や分子運動性の関数として少し複雑な応答をする。感度増強のためにOverhauser DNPを使うのなら3つとも1に近づけるように条件を工夫することになる。一方、 ξ の値を電子スピン近傍の核スピンの並進や拡散運動の検出に使うこともできる。 ξ はハイパーファインのコンタクト成分がゼロ、電子のゼーマン周波数は核のそれに比べ大きい($\omega_S \gg \omega_I$)という近似のもと、次の形に変形できる^[4]：

$$\xi = \frac{5}{7} \left[1 - \frac{3J(\omega_I, \tau_c)}{7J(\omega_S, \tau_c) + 3J(\omega_I, \tau_c)} \right]$$

極端な2つの場合を考えよう：

速い運動の極限($\omega_S \tau_c \ll 1$)：すべての周波数でスペクトル密度がほぼ真つ平らになり、 $J(\omega) \approx \tau_c$ としてよい。上の式に入れると $\xi \rightarrow 0.5$ となる。この場合、最大エンハンスメントは $-\xi (\gamma_S / \gamma_I) \approx -330$ (^1H 核の場合)となる。

遅い運動の極限($\omega_S \tau_c \gg 1$)：高周波成分 $J(\omega_S)$ のdispersionが先に始まり、低周波成分 $J(\omega_I)$ は比較的保たれるため、分子 $\rightarrow 3J(\omega_I)$ 、つまり $\xi \rightarrow 0$ となる。この場合、エンハンスメントは消失する。

図1でいう“コンタクト成分0%”を示す“0”のラベルが付いた線が示す依存性である。Songi Han教授(Northwestern University)の招待講演内では、スピンラベルしたLOVタンパク質の水溶液試料について、水分子の動的性質を調べるプローブとして利用されていた。水信号のOverhauser DNPエンハンスメントを計測し、これが下がる試料条件では、ラベルした残基周囲の水の運動性は下がったと解釈できるというわけだ。

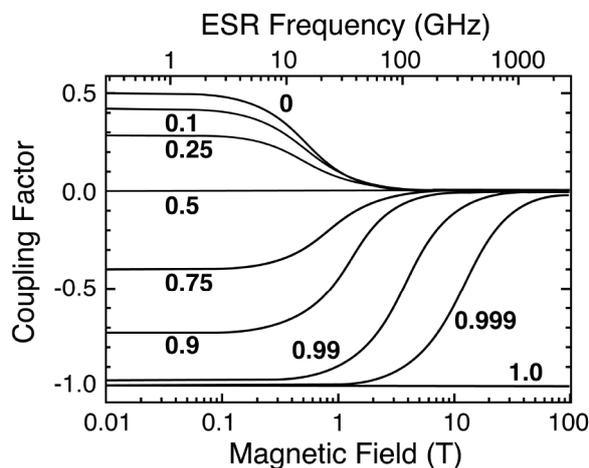


図1 ξ の $\omega_S/2\pi$ 依存性。コンタクト成分の寄与率がラベルしてある。

3.3 1960–80年代—Solid EffectとCross Effectの発見

DNP研究は1960年代前後に新たな段階を迎える。Jefferies、Abragamらにより、金属でも溶液でもない固体試料で有効なSolid Effect機構が発見された^[5]。これは、電子スピン-核スピンの2スピン系で起こる現象で、電子-核ハイパーファイン相互作用が2次の摂動として禁制遷移 ($\Delta m_I = \pm 1$, $\Delta m_S = \pm 1$) を許容することによる。

さらに、1963年KessenikhらによってCross Effect DNPが報告される。これは、2つの電子スピンとひとつの核スピンの3スピン系で起こり、特定の周波数条件 $|\omega_{S1} - \omega_{S2}| = \omega_I$ を満たすとき、効率的な偏極移動が実現される。Wollanの2電子系の興味深い考察もある^[6,7]。

1980年代には、WindらがポリマーサイエンスへのDNP応用を推進し、材料科学分野での有用性が認識された。しかし、この時期のDNPは主に低磁場 (<1.5T) に限定されており、高分解能NMRとの組み合わせは困難であった。

3.4 1990年代以降—高磁場MAS-DNPへのブレークスルー

高磁場DNPへのブレークスルーは、1990年代後半から2000年代にかけて、いくつかの技術革新が同時に進展したことによってもたらされた。

バイラジカル分極剤の開発：Robert Griffin研究室 (MIT, USA) は、Cross Effect機構を最大限活用するため、分子内に2つのラジカル部位を持つバイラジカル分極剤を系統的に開発した。現在使われるTOTAPOL、bTbK、TEKPol、AMUPolなど一連の分子は、2つの電子スピン間の距離や

相対配向、電子の緩和時間、脂溶性・水溶性という観点で最適化されており、高磁場DNPの応用範囲を広げた^[8]。

高周波ジャイロトロンの開発：Griffin研とはAlbany St.を挟んで向かいの建物にあるRick TemkinとJags Sirigiriらのグループ (MIT, USA) は、ジャイロトロンと呼ばれる真空管型の高出力マイクロ波源の開発で有名だった。ジャイロトロンは90年代には140 GHz (5T)、2000年代には460 GHz (16.4T) など、広範な周波数で100 W級のマイクロ波出力を実現する珍しい光源である。ジャイロトロンをDNP-NMR用の光源として採用することで、現代の高磁場NMR分光計 (9.4-21T) でのDNPに道が開かれた。

極低温MAS技術：液体窒素で窒素ガスを冷却することで、低温スピナーガスの安定的な生産を行い、試料を100Kの極低温に冷却しながら高速回転 (>8kHz) を維持するMASプローブも2000年代までに技術が成熟した。低温化は電子スピンの偏極度を向上させるだけでなく (偏極度 $\propto 1/T$)、核スピンの T_1 を延長することで偏極の蓄積を促進する。

さらに2010年代には、試料を液体ヘリウム温度 (<30K) まで冷却するヘリウム温度MAS-DNP技術が確立された。もちろん古くから報告があるが、高価なヘリウムの消費を劇的に抑えられる閉回路システムによって初めて実用的な技術になった^[9]。この極低温化により、メチル基含有量の多い膜タンパク質や薬剤・生体分子でも、 ^1H の T_1 を維持でき、DNP増感を達成できるようになった。メチル基の回転は100K付近では依然として強い緩和源になるが、30K付近では大きく抑制される。

4. Cross Effect DNPの物理

4.1 3スピン系のハミルトニアンと固有状態

Cross Effectを理解するには、2つの電子スピン (e_1, e_2) とひとつの核スピン (n) からなる3スピン系の量子力学的記述が必要になる。この系のハミルトニアンは、

$$H = H_{e_1} + H_{e_2} + H_n + H_{\text{dip}(e_1, e_2)} + H_{\text{hf}(e_1, n)} + H_{\text{hf}(e_2, n)}$$

と表される。ここで、最初の3項はゼーマン項、後の3項はそれぞれ電子-電子双極子相互作用、電子-核ハイパーファイン相互作用である。

この系は8つの固有状態を持ち、直積空間表記 $|m_{e_1}, m_{e_2}, m_n\rangle$ で、 $|1\rangle = |\downarrow\downarrow\uparrow\rangle$, $|2\rangle = |$

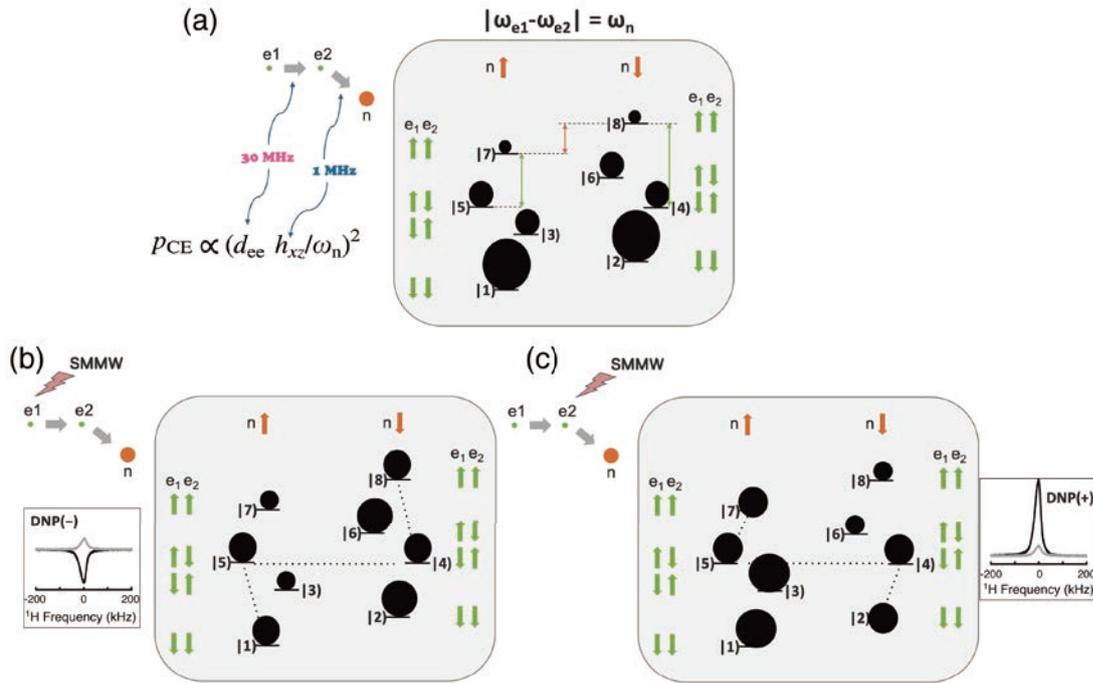


図2 Cross Effectを説明する電子-電子-核のエネルギー8準位。(a)熱平衡状態、(b) e1遷移の飽和に伴う定常状態、(c) e2遷移の飽和に伴う定常状態。各準位の占有度が黒丸の大きさで示してある。(a)にはCross Effectの周波数適合条件付近での、断熱遷移の確率が、どのスピンパラメータに依存するかも示してある。

$|\downarrow\downarrow\downarrow\rangle, |3\rangle = |\downarrow\uparrow\uparrow\rangle, |4\rangle = |\downarrow\uparrow\downarrow\rangle, |5\rangle = |\uparrow\downarrow\uparrow\rangle, |6\rangle = |\uparrow\downarrow\downarrow\rangle, |7\rangle = |\uparrow\uparrow\uparrow\rangle, |8\rangle = |\uparrow\uparrow\downarrow\rangle$ と表される。

熱平衡状態でも、電子スピンは大きな偏極を持つため、 $|1\rangle, |2\rangle$ の占有数が $|7\rangle, |8\rangle$ より有意に大きい。一方、核スピンの偏極は無視できるほど小さいため、たとえば $|1\rangle$ と $|2\rangle$ の占有数はほぼ等しい(図2a)。

4.2 周波数マッチング条件と準位交差

Cross Effectの鍵となるのは、特定の条件下で準位 $|4\rangle$ と $|5\rangle$ が縮退(または準縮退)することである。ゼーマン項のみを考えると、これらの準位のエネルギー差は、

$$E_5 - E_4 = \hbar (\omega_{e1} - \omega_{e2} - \omega_n)$$

となるから、

$$|\omega_{e1} - \omega_{e2}| = \omega_n \text{ (周波数マッチング条件)}$$

が満たされるとき、 $|4\rangle$ と $|5\rangle$ はほぼ縮退する。この条件は、「2つの電子スピンの共鳴周波数差が、核スピンのゼーマン周波数に一致する」ことを意味する。このような準縮退条件下では、わずかな摂動によって状態の混合が起こりやすくなる。具体的には、電子-電子双極子相互作用 $H_{dip}(e1, e2)$ と電子-核ハイパーファイン相互作用 $H_{hf}(e, n)$ のクロスタームが、二次の摂動として $|4\rangle \leftrightarrow |5\rangle$

遷移を誘起する。

4.3 3スピンフリップ過程と偏極移動のメカニズム

今、マイクロ波で低周波側の電子スピン $e1$ の遷移を照射し、 $|1\rangle \leftrightarrow |5\rangle, |3\rangle \leftrightarrow |7\rangle, |2\rangle \leftrightarrow |6\rangle, |4\rangle \leftrightarrow |8\rangle$ を飽和させたとする。定常状態では、これらの準位ペアが等しい占有数を持つようになる。ここで重要なのは、 $|4\rangle$ と $|5\rangle$ が準縮退しており、かつ $H_{dip}(e1, e2)$ と $H_{hf}(e, n)$ のクロスタームによって結合していることである。この結合により、3スピンフリップ過程 $|5\rangle \rightarrow |4\rangle$ が効率的に進行する結果、 $|1\rangle, |4\rangle, |5\rangle, |8\rangle$ の4準位が同じ占有数に向かって推進される。これを核スピンの遷移、たとえば $|1\rangle \leftrightarrow |2\rangle$ などから見ると、核スピンの上準位の占有数がより大きい。つまり、核スピんに負の偏極が生じる(DNP(-)、図2b)。逆に、高周波側の電子スピン $e2$ を照射すれば、 $|2\rangle, |4\rangle, |5\rangle, |7\rangle$ が等しい占有数となり、正の偏極が生じる(DNP(+)、図2c)。

4.4 MAS下でのダイナミクス

MAS下では、状況がさらに複雑になる。各分極剤分子の電子スピン共鳴周波数は、g-テンソルの異方性により、ローター回転角 γ とともに変化

する。その結果、周波数空間中で各分子は特有の軌跡を描く(図3b)。Thurberらの詳細な理論解析によれば^[10]、各分子について、特に以下の素過程がDNPに重要となる：

1. 一方の電子スピンの共鳴周波数がマイクロ波周波数と一致する瞬間(飽和)
2. 二つの電子スピンの周波数差が核スピンのゼーマン周波数と一致する瞬間(CEマッチング)

これらの条件は、ローター1周期中に間欠的にしか満たされない(図3a)。さらに、各分子の結晶系とローター系の相対配向(オイラー角 α, β) ごとに、軌跡の形状が異なる。パウダー試料では、すべての配向が無作為に分布するため、各瞬間に寄与する分子集団は異なることになる。無数の分極剤分子が、それぞれ異なるタイミングで、異なる周波数で、核スピンへの偏極移動に寄与する。ロータ内に無数に散らばった偏極剤が、ランダムにチカチカ光るような描像だ。この集団的な振る舞いの結果として、マクロな超偏極が生成される。

4.5 断熱遷移確率と高磁場での効率

たとえばCE交差の効率に着目してみる。単位交差点 $|4\rangle \approx |5\rangle$ を通過する際の断熱遷移確率は、Landau-Zenerの理論により、

$$p_{CE} \approx 1 - \exp(-2\pi \Delta^2 / (\hbar |d\Delta E/dt|))$$

と表される。ここで、 Δ は $|4\rangle$ と $|5\rangle$ 間の結合エネルギー(電子-電子双極子と電子-核ハイパーファイン相互作用のクロスタームによる)、 $d\Delta E/dt$ は単位交差の速度である。十分遅い通過(断熱

極限)では $p_{CE} \approx 1$ となり、完全な遷移が起こる。Thurber and Tyckoの詳細な理論解析により、この確率を簡略化すると、

$$p_{CE} \propto (d_{ee} \cdot h_{en})^2 / \omega_n^2$$

となる。ここで、 d_{ee} は電子-電子双極子相互作用強度、 h_{en} は電子-核ハイパーファイン相互作用強度である。

重要なことに、この確率は核スピンのゼーマン周波数の2乗に反比例する。したがって、高磁場化により効率は低下する。しかし、分極剤の分子設計により相互作用強度 d_{ee} を最適化することで、この効率低下をある程度補償できる。上述したバイラジカル分極剤では、 $d_{ee} \sim 30$ MHz程度と比較的大きくでき、最近では交換相互作用を利用する例もある。この自由度がCross Effectが高磁場でも有効な理由のひとつである。

4.6 偏極の蓄積とスピン拡散-マクロな偏極の形成

MAS-DNPでは、各分子への偏極移動が間欠的・パルス状に起こる(図3a)。電子スピン e_1 が部分的に飽和された瞬間から、次のCEマッチングまでの時間が数 $10 \mu s$ あるケースが多く、この間に電子スピンの縦緩和 T_{1e} (典型的に $\sim 100 \mu s$) により e_1-e_2 の偏極差が部分的に失われることになる。また、CEマッチングから次の飽和までの時間が長ければ、同様の損失が核スピンにも生じる。したがって、効率的なDNPには、①強力なマイクロ波による迅速な飽和、②適切な T_{1e} (短すぎると蓄積前に緩和)、③適切なMAS周波数(速すぎると通過が非断熱的になる、遅すぎると時間

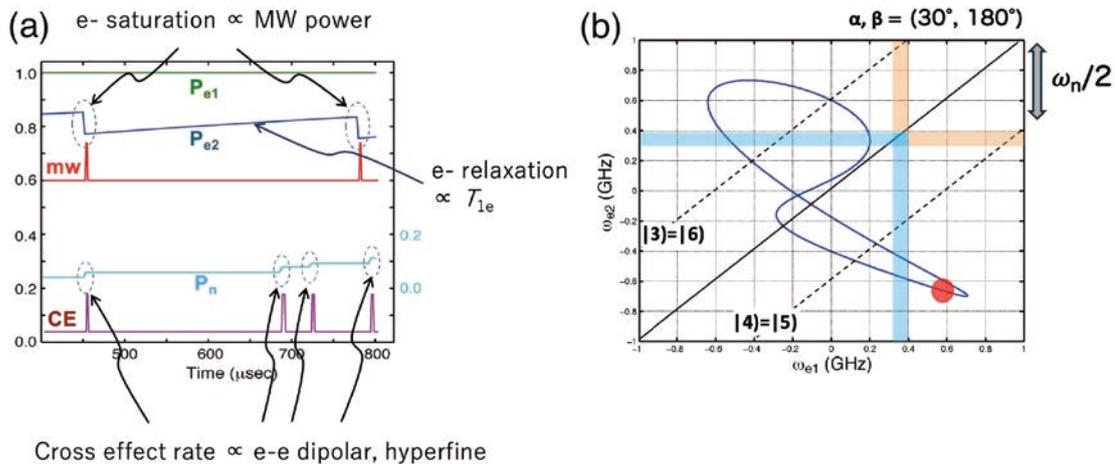


図3 (a) スピン偏極の時間依存性。とある結晶配向の偏極剤について、ロータ回転1周期分をプロットしてある。マイクロ波による飽和(赤)やCross Effectマッチング(紫)は1周期中に間欠的にしか起こらない。(b) 電子1(x軸)、電子2(y軸)共鳴周波数のロータ1周期分のプロット。たとえば色付きの線を交差するとき飽和され、点線の条件でCross Effectマッチングが起こる。

効率が悪い)のバランスが重要となる。

一方、核スピンの T_{1n} は電子スピンの T_{1e} より2~3桁長い場合、2回のCEマッチング間の時間に完全には緩和しないケースが多い。このため、ローター数千回転(~秒)の間に、スピン拡散とともに徐々に偏極が試料全体に広がり、蓄積される。スピン拡散定数は典型的に $D \sim 0.1 \sim 1 \text{ nm}^2/\text{ms}$ 程度であり、30~100 nmの距離を拡散するのに10秒ほどを要する。完全な平衡到達には、試料全体のサイズや拡散に使う核種に依存して、数十秒から数分かかることがある。

少ない偏極剤分子数で常磁性ブロードニングを避けつつ、多くの核スピンを偏極しようとする一般的な使い方では、この長い蓄積時間は、繰り返し感度の制限になることがある。低ガンマ核の拡散では高次元測定などのボトルネックになることがある。したがって、通常拡散が最も速い ^1H の超偏極とスピン拡散を使うのだが、逆に空間選択性が落ちるので、応用によっては注意が必要となる。

4.7 Solid Effectとの比較—なぜCross Effectが高磁場で有利か

Solid Effectは2スピン系(ひとつの電子スピン、ひとつの核スピン)で起こり、4準位系で記述される。禁制遷移 $|\downarrow\downarrow\rangle \leftrightarrow |\uparrow\uparrow\rangle$ (2量子)および $|\downarrow\uparrow\rangle \leftrightarrow |\uparrow\downarrow\rangle$ (ゼロ量子)は、一次の摂動では許容されないが、電子-核ハイパーファイン相互作用とマイクロ波場のクロスタームが二次の摂動として寄与する。

遷移確率は、

$$p_{SE} \propto (\omega_{1e} \cdot h_{en})^2 / \omega_n^2$$

と表され、今度はマイクロ波ラビ周波数 ω_{1e} が分子に入っている。高磁場では共鳴構造(キャビティ)を作れないため、試料位置での $\omega_{1e}/2\pi$ は強くすることが難しく(典型的に~0.5 MHz)、Solid Effectの効率は著しく低い。対してCross Effectでは、分子内の電子-電子相互作用 d_{ee} (数100 MHz)を利用できるため、高磁場でも比較的高い効率を維持できる。これが、現代の高磁場MAS-DNPでCross Effectが主流となっている理由である。

5. DNP 試料調製の実際—分極剤、溶媒、試料形態

5.1 成功の2要件—単純だがけっこう奥が深い

効果的なDNP測定を実現するための試料調製には、2つの基本要件がある。一見単純だが、実際には多くの試行錯誤と経験知が必要とされる：

1. 分極剤の単分散性：分極剤分子が凝集せず、試料中に均一に分散していること。凝集すると、(a)電子-電子双極子相互作用が過度に強くなり、ESR線幅が広がるし、緩和が速くなる、(b)分極剤が凝集した局所的な高濃度領域には、核スピン(標的分子)がアクセスできなくて偏極を伝えられない。これらの問題でDNP効率は著しく低下する。

たとえば、単なる水溶液試料では、氷の形成とともに分極剤分子が追い出されて高濃度に至り、凝集する。したがって溶媒にはガラス転移するものが好まれる。ガラス状態の形成で結晶化を避け、分極剤の排除や凝集を防ぐ。ガラス化には低温を要するものも、そうでないものがあり選択肢はいくつもある。

2. スピン拡散経路の確保：偏極剤分子周辺に生成した超偏極を目的分子まで効率的に配るため、プロトンのスピン拡散ネットワークが連続していることが重要である。溶媒の重水素化が過度に進んでいると、スピン拡散が遅くなり、目的分子への偏極移動が非効率になる。一方、 ^1H が溶媒マトリクスに多すぎると溶媒の熱容量が高すぎるのに似て、標的分子に届く偏極が減ってしまう。当然、メチル基など、核スピンの緩和源が溶媒に多いと、伝わりながらどんどん緩和する。できるだけ T_1 の長い溶媒が望ましい。重水素化する所以だ。

5.2 分極剤の選択と特性

図4aにあるように、高磁場MAS-DNPで用いられる主要な分極剤として以下がある：

バイラジカル：AMUPol、bTbK、TEKPol、AsymPolなど。これらは、Cross Effect機構に必要な電子-電子の双極子結合を保証するように、2つのラジカル部位が共有結合的に連結され、電子-電子双極子相互作用(~20-40 MHz)が得られるよう設計されている。このうえ、周波数マッチング条件 $|\omega_{e1} - \omega_{e2}| = \omega_n$ を優先的に満たすような分子ねじれを設計し、導入することもできる。AMUPolは水溶性で、glycerol/水混合溶媒系で優れたDNP効率($\epsilon \sim 50 \sim 300@30 \sim 100 \text{ K}$, 9.4~16.4 Tなど)を示す。2つのTEMPOラジカル間の距離は約1.3 nm、電子-電子双極子相互作用は

約30 MHzである。柔軟なリンカーにより、さまざまな配向で周波数マッチング条件を満たせる。TEKPolは有機溶媒 (TCE など) に可溶で、脂溶性試料に適している。より剛直な分子骨格により、 g -テンソルの相対配向が最適化されており、特定の配向で非常に高いDNP効率を示す。バルキーな化学基をラジカル周辺に導入し、 T_{1e} の延長によるDNP効率向上も目論んだ設計になっている。最近はTinyPol、TEMTriPol、HyTEKなど高磁場でよく働くバイラジカルも報告されている^[8]。

Gd (III) 錯体：Gd-TPATCNなど。Gd (III) は $S = 7/2$ の高スピン状態を持ち、比較的細いESR線を示すため、高い外部磁場条件でもSolid Effect機構によりDNPを誘起できる。また、細胞内のような還元環境でも比較的安定で、in-cell DNPにも利用できる (細胞毒性には気をつける)^[11]。

Trityl系ラジカル：モノラジカルでSolid Effect機構により作用する。狭いESR線幅を持ち、高い9.4 Tでも比較的高いDNP効率を出す。これも比較的還元環境に安定で、in cell、in vivo測定への応用を検討しているグループがある^[12]。

BDPA：主に有機溶媒系で使えるモノラジカル。最近、固体試料中でOverhauser DNP (らしき) 現象がBDPAを使って観測されており、議論を呼んでいる^[13]。

これら一般的な分極剤のESR信号とDNP周波数プロファイルの例が図4bに示してある。

ナノダイヤモンド：NV中心などに局在する不対電子を利用してダイヤモンド内の ^{13}C を超偏極する例が古くから報告されている^[14]。化学的にきわめて安定で、光学的にも制御可能な超偏極機構として、スピン物理的な側面から興味深い物質である。反面、分子構造研究に有用な高磁場条件 (>10 Tなど) では、NVセンターの超偏極をダイヤモンドの外にある一般的な溶質分子に輸出する手立てが今のところない。外部磁場との配向依存性も強いので、MAS条件下では特に使いづらく、現在でも解決の目処が立たない。最近、我々はダイヤモンド表面のダングリングボンド電子の高い偏極を、ダイヤモンド外部の分子に渡せること、強い還元環境でも一切失活しないことを示し、新しいタイプのin cell DNP用分極剤として研究を進めている^[15]。

5.4 試料形態の多様性—溶解、懸濁、含浸

DNPの大きな利点のひとつは、試料形態に対する自由度である。分極剤分子と違い、解析の標的分子は必ずしもマトリクスに溶解している必要はない。以下のような多様な試料形態でDNPが可能である (図4c)：

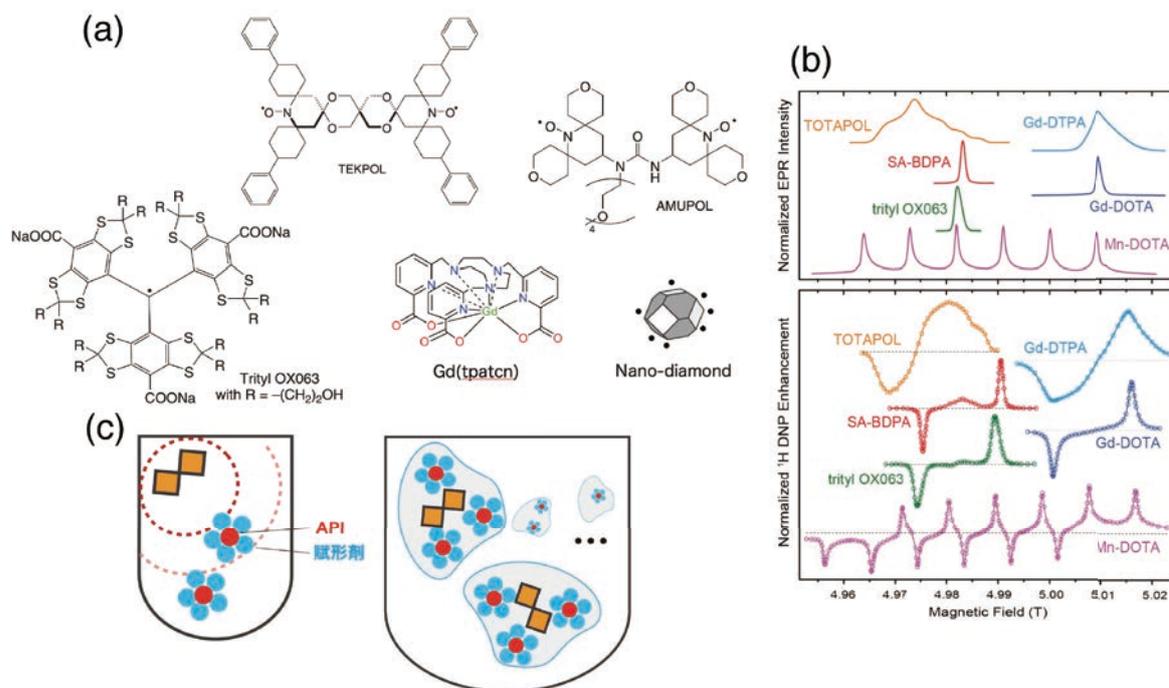


図4 (a) よく使われる分極剤の例。(b) 5 TにおけるESR線型と対応するDNP周波数プロファイル。(c) 複合体分子系のDNP試料。分極剤溶液での懸濁 (左)、分極剤溶液による含浸 (右)。The panel (b) is used from Kaushik et al., PCCP 18, 27205- (2016) under Creative Commons Attribution 3.0 Unported License.

溶解 (dissolution) : 分極剤と標的分子をともに溶解する。最も均一で再現性が高いが、標的分子の溶解性が要求される。

懸濁 (suspension) : タンパク質微結晶、膜タンパク質を含むリポソーム、細胞などを分極剤を含む溶媒中に懸濁する。超偏極は溶媒から粒子表面へ、さらにスピン拡散により内部へと伝搬する。拡散深度は \sqrt{Dt} で推定され、 $D \sim 0.5 \text{ nm}^2/\text{ms}$ 、 $t \sim 10 \text{ s}$ とすれば、約70 nm程度まで到達する。したがって、おおまかに言えば低温において直径100 nm程度までの ^1H 化された粒子なら、中心部まで十分に偏極が届くと言える。

含浸 (impregnation) : 粉末試料に分極剤溶液を最小限加え、表面を湿らせる程度にする。溶媒の体積を減らすことで、試料の実効濃度を高め、感度を最大化できる。セルロースナノファイバー、骨粉末、ポリマー粉末、ポリマーフィルムなどで実績がある。多孔質材料では、細孔内部にも分極剤溶液が浸透し、非常に良好なDNP効率を出すことがある。

懸濁でも含浸でも、目的粒子のインテグリティを維持したままNMR計測するには、粒子自体は溶媒に溶けないことが重要となる。水溶性天然物の微結晶なら水-グリセロールよりもエタノールガラスのほうがうまくいくケースがある。結晶化の母液条件をそのままに、グリセロールを徐々に混入しエンハンスメントを最大化するなどもある。いずれにしてもやってみるしかない。含浸後、急いで凍結してしまうという手段がうまくいくこともある。

Spray drying : 分極剤と目的分子を溶液から噴霧乾燥する。溶媒が急速に蒸発するため、分子レベルで均一に混合された非晶質固体が得られる。医薬品製剤分野で用いられる技術で^[16]、結晶性医薬品の非晶質化と同時にDNP試料調製ができる。

Hot melt extrusion : 分極剤と目的分子を加熱・混練して押し出す。溶媒を用いずに、分子レベルで均一に混合された固体を得る。ポリマーや融点の低い有機化合物に適用可能。

6. 応用例

6.1 タンパク質微結晶-非標識構造生物学への道

非標識リゾチーム (分子量14 kDa、129アミノ酸)の微結晶を、glycerol/D₂O/H₂O + 20 mM AMUP

olのマトリクスで含浸した試料で $\epsilon_{\text{DNP}} \sim 150$ が得られた(図5a)。 $\{^1\text{H}\}-^{13}\text{C}$ CP-MASスペクトルは、わずか2スキャン(積算時間約20秒)で明瞭な信号を与える。通常の固体NMR(DNPなし)で同等のS/Nを得るには、数時間から数日の積算が必要になる。 $\epsilon_{\text{DNP}} \sim 150$ は、積算時間を $(150)^2 = 22,500$ 倍短縮できることを意味する(24時間を4分に)。また、このS/Nなら2D $^{13}\text{C}-^{13}\text{C}$ 相関測定も可能である。

この技術は、非標識タンパク質の構造研究に新たな可能性をもたらす。従来、固体NMRによるタンパク質構造研究には、 ^{13}C 、 ^{15}N 安定同位体標識が不可欠であった。同位体コストの削減のほか、毒性が強いなど有効な発現系が構築できないタンパク質の研究に道を開く。もちろん、標識が普通は入らない天然物や材料の解析にも強い武器となる。ヘリウム温度DNPにより、メチル基の多い膜タンパク質や薬剤分子結晶のような「不利な」系でも、非標識のまま測定できる可能性が示されている。

6.2 生体骨試料一階層構造と機能の関係

ウシ緻密骨を粉碎(10~30 μm)し、glycerol/D₂O/H₂O + 10 mM AMUPolを含浸させた。骨組織のような複雑なマトリクスでは、内部に微細な空隙が多数存在するため、分極剤溶液が浸透しやすい。また、組織内の水分が結晶化しにくい環境(細孔内閉じ込め効果)にあるため、glycerolを用いず、単なる水溶液でDNPが効果的に起こった(図5b)。 $\epsilon \sim 50$ の条件で、コラーゲンの ^{13}C 信号(カルボニル、脂肪族)のほか、無基層表面のクエン酸など有機酸、塩の ^{13}C 信号が観測された。分極剤分子周辺のみを選択観測するような方法を応用し^[17]、有機-無機界面の分子を選択的に観測することもできた。コラーゲン分子とアパタイト結晶の界面で、どのような分子相互作用が働いているか、複雑な生体材料内でも、重要部分にフォーカスした分子構造研究が可能になった。

6.3 細胞内DNP - in situ 構造生物学

HeLa細胞に水溶性分極剤(AMUPol、培地中10 mM)を取り込ませ(5分インキュベーション)、遠心・凍結後、20 K、 $\epsilon \sim 50$ でMAS-DNP測定を行った(図5c)。試料管内には約 10^6 個の細胞が含まれ、文献値から細胞内平均タンパク質濃度を推定すると、試料管あたり約30 nmol(同位体

非標識)となる。 ^1H - ^{13}C CP-MASスペクトル(積算時間約1時間)で、カルボニル、芳香族、脂肪族領域の信号が観測され、さらに二次元 ^{13}C - ^{13}C 相関スペクトル(30時間積算)でクロスピークが得られた。これは、非標識の細胞内タンパク質の構造情報を、in-cell条件で直接取得できる可能性を示している。しかし、現状は内在するタンパク質信号すべての重ね合わせであり、標的選択的な解析には、さらなる感度向上が必要になるだろう。

In-cell NMRという手法は2000年代に溶液NMRで報告され始めたが、対象は細胞質で速いブラウン運動をする小型タンパク質単体が主体である。一方、細胞内では、単独のタンパク質のみならず、他のタンパク質、核酸、代謝物、イオンなどを多価的な相互作用で巻き込んだ高濃度溶液、液-液相分離(LLPS)した膜なしオルガネラのようなもの、またオリゴマー、タンパク質凝集体も生理的、病的に重要な影響を及ぼす。これらの解析には固体NMRが必要である。またそのプロ

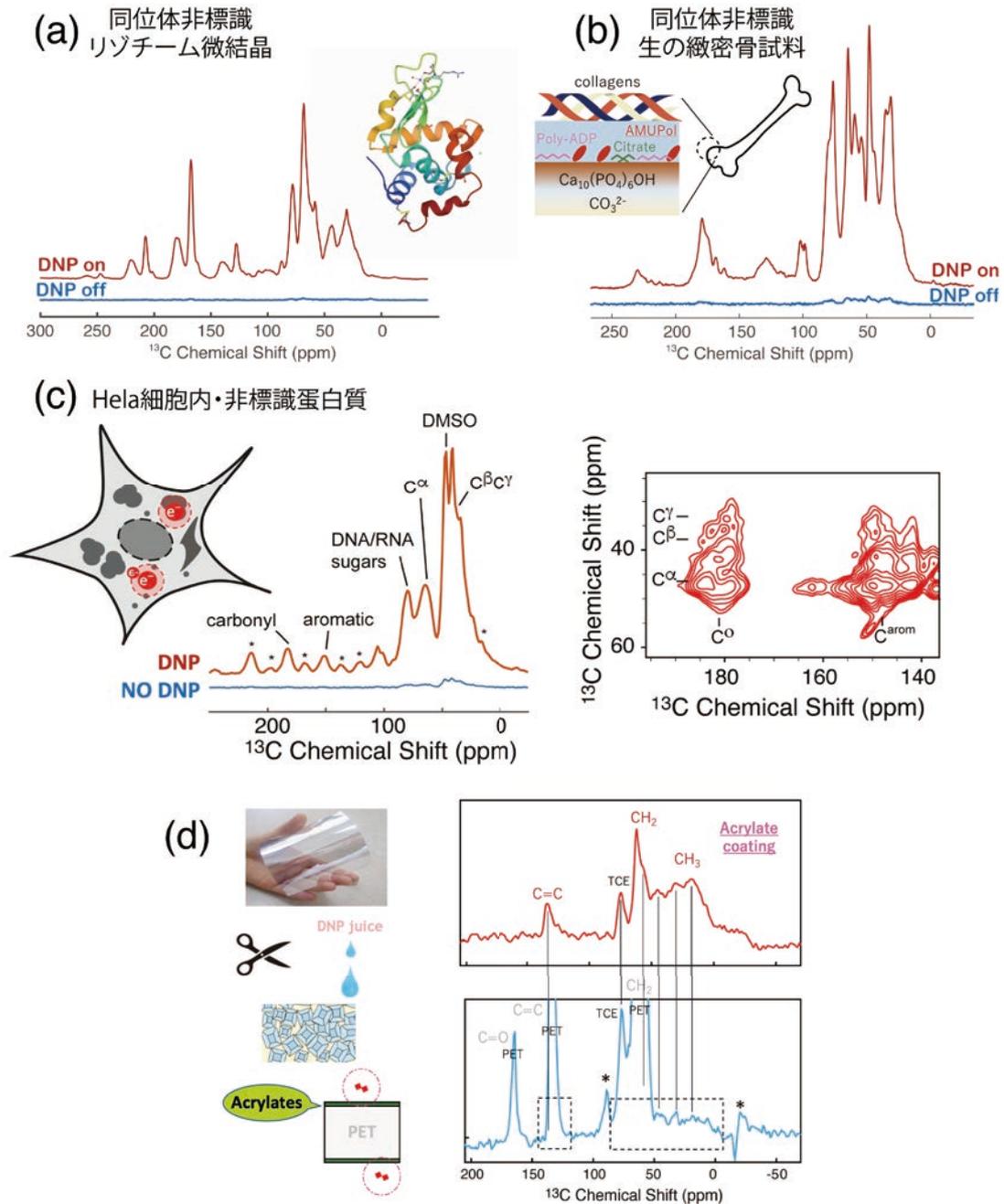


図5 $B_0 = 16.4 \text{ T}$, $T = 30 \text{ K}$ におけるDNP測定の場合。すべて同位体標識なしの試料。(a) リゾチーム微結晶、積算2回、 $\epsilon = 150$ 。(b) 生体骨試料、積算64回、 $\epsilon = 50$ 。(c) HeLa細胞内の蛋白質、積算32回、 $\epsilon = 50$ 。2Dデータは積算128回、取得時間30時間。(d) PETフィルム表面の有機ナノコーティング。32回積算。Oops-DNP法でPET信号を消し、フィルム表面のみ観測できる(右上)^[17]。

セスは、細胞内環境特異的に進行する可能性があり、細胞内直接構造研究に資する技術の開発は急務である。今後DNP-固体NMR技術は、細胞内での構造獲得・変化、凝集（神経変性疾患との関連）、相分離（遺伝子発現制御との関連）などを追跡する強力なツールとなることが期待される。

6.4 フィルム表面修飾層—産業材料の キャラクタリゼーション

図5dに示した通り、PETフィルム表面のアクリレートナノコーティング（厚さ～100nm）を解析した例は、DNPの産業応用の可能性を示している。フィルムを細かく裁断し、TEKPol/TCEマトリクスで含浸した。

通常のDNP測定では、アクリレートコーティングの信号がDNP増強されるのはよいのだが、PETフィルムの厚みは数マイクロメートルと100倍以上の分量で存在するため、結局は基材フィルムからの信号が巨大で、見たい表面コーティングの信号を覆い尽くす。これは空間選択的DNPにより、フィルム表面（コーティング層）のみを選択的に増強できる^[17]。この技術により、微量の表面修飾層（全試料の数%以下）のみを選択的に観測し、その化学構造（架橋度、重合度、官能基の分布など）を詳細に解析できる。ディスプレイ用保護フィルム、食品包装材、医療用材料など、表面物性が重要な産業材料の研究開発に貢献することが期待される。

7. 将来展望—次世代 DNP 技術

7.1 パルスDNP—コヒーレント制御への道

位相変調できるパルス状のマイクロ波を用い

たコヒーレントなDNPが実現すれば理論的には、電子-核ハイパーファイン相互作用による結合強度（10MHz程度）の逆数（ μs 程度）で偏極移動が完了することになる^[18]。これはCW-DNPの典型的な偏極蓄積時間（数10ms～数秒）より2～3桁速い。繰り返し時間が電子スピンの T_{1e} （～ms）で決まるため、積算効率が大幅に向上できる可能性も示している。¹Hから直接結合した¹³CにCPするように、標的分子に分極剤分子を1:1に対応させ、選択的に増感するようなアプリで特に大きな利点をもたらす（図6b）。生体系の応用では、超希薄な標的分子の信号をいかに捉えるかが問題で、標的に分極剤を1:1に届けるセットアップが現実的である。他方、少数の分極剤分子を混入しておき、多数の標的分子に偏極を配るような試料セットアップだと、どうしてもスピン拡散がボトルネックになる。パルスDNPであっても、偏極の蓄積にやはり核スピンの縦緩和くらいの時間がかかることになり、繰り返し感度で大きな利点は望めないかもしれない（図6b）。

それでもパルスDNPが重要なのは、DNP効率の磁場依存性がCW-DNPより弱い点にある。CW-DNPでは、マッチング条件 $|\omega_{e1}-\omega_{e2}|=\omega_n$ やスペクトル密度の磁場依存性により、高磁場で効率が低下する。これに対しコヒーレントな偏極移動では、原理的には磁場に関係なく、より高速で効率的なDNPを実現できる可能性がある。

課題は、300GHz以上の高周波領域で、コヒーレントで強力なマイクロ波パルスを生成できるか、にある。固体素子（IMPATT diode、Gunn diodeなど）では出力・位相制御に限界があり、現状では100GHz程度までが実用的である。任意

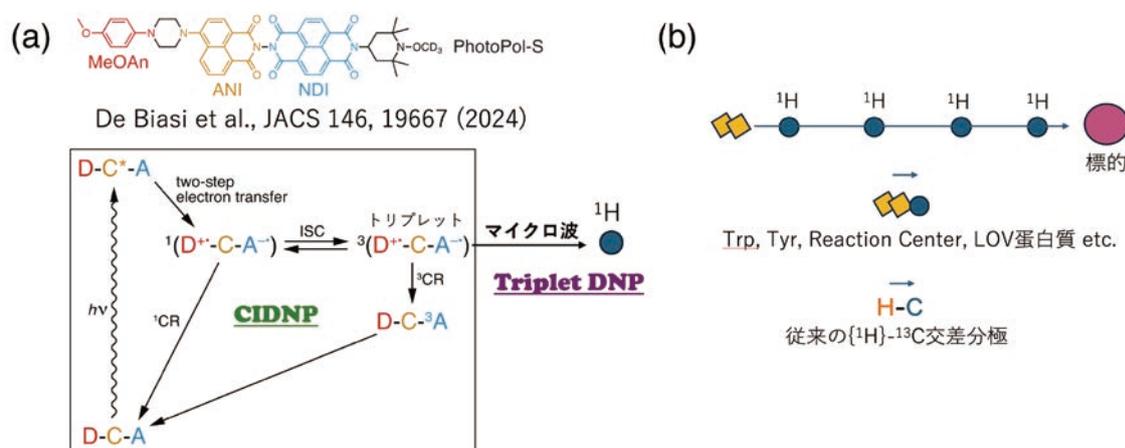


図6 (a) 光励起CIDNPを¹Hに高磁場条件下で起こすPhotoPol-Sの構造と、光励起DNPが関与する色素分子の一般的な励起・再結合過程の模式図。(b) 偏極剤と標的分子の量比や距離感の模式図。

波形成 (AWG) とアップコンバージョンの技術開発が待たれる。固体マイクロ波光源にジャイロアンプリファイヤーを組みあわせる手法にも、未来がある^[19]。

また、高磁場では共鳴構造 (キャビティ) を作れないため、試料全体に均一なマイクロ波を照射することも課題である。非共鳴型の広帯域構造や、準光学的な導波路設計が必要となる。しかし、これらの技術的課題が克服されれば、パルスDNPは高磁場NMRの感度を革命的に向上させる可能性を秘めている。連続波NMRがパルスNMRに発展したようにDNPにも技術の進歩とともに開かれる未来があるかもしれない。

7.2 光励起DNP—マイクロ波フリーDNP技術の新展開

上述したDNP法は電子スピンの熱平衡偏極を核スピンの移すタイプである。この他に、光励起により生成される電子スピン超偏極を利用するDNP (Triplet DNP および CIDNP) もあり、いくつかの利点を持つ。

CIDNP (Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarization) : 従来、CIDNPは溶液中の特定のアミノ酸残基 (Trp, Tyr) や光合成反応中心など、限られた系でのみ観測されてきた。しかし最近、De Biasi et al.により低温固体試料で、マトリクス中¹Hへの一般的な偏極移動が実証された^[20]。この意味することは、効率の高い¹Hのスピンの拡散によってマトリクス中の標的分子に広く、光励起に起因する超偏極を配れるということである。アプリケーションの拡大に一役買いそうだ。

その報告では、適切な光増感剤 (例: PhotoPol や PhobPol-S) を *o*-terphenyl (OTP) などのマトリクスに分散させている。LED照射 (~450 nm、青色光) により、増感剤の一重項励起状態 (S_1) が生成され、項間交差 (ISC) により三重項状態 (T_1) に移る。ISCの速度が、ハイパーファイン相互作用で結合している核スピンの α/β 状態に依存するため (スピンソーティング)、 S_0 と T_0 サブレベルに逆向きの核スピン超偏極が生じることがある。 S_0 - T_0 間の再結合速度に差 (例: 差動緩和、差動再結合、トリプレット-トリプレット消滅など) があれば、これも正味の核スピン偏極を基底状態に残す。特定の周波数マッチング条件が揃えばISC中に直接核スピン偏極が生成することもあ

る (3スピンミキシング)。つまり、いくつかの可能なプロセスを通して、マイクロ波なしで核スピン超偏極が勝手に生まれるわけだ。これらを総じてCIDNP効果と呼ぶ。

第1の利点は明白だろう。光源として安価なLED (~数千円) で十分な場合がある。高価で大型のジャイロトロン (~数千万円、重量数百kg、大掛かりな高圧電源と専用冷却システム必要) が不要になる。これは、特に途上国や小規模研究室でのDNP普及に大きなインパクトを持つ。第2に、光を切ることで信号取得時の常磁性効果 (緩和促進、信号ブロードニング) を排除できる。従来のDNPでは、測定中も分極剤が試料中に存在するため、常磁性緩和により線幅が広がる問題がある。この特徴は標的分子に1:1の偏極剤を届けて行く、選択的DNPのセットアップでは鍵となる。第3に、室温での超偏極を作れる可能性がある。三重項状態に生成する偏極は熱平衡偏極と無関係に高くなり得るから、試料の冷却によって電子の熱平衡偏極を稼いでおく必要がない。この場合、低温MASの大掛かりな装置も不要となる。

それでもよいことばかりではない。ドローバックは、現状、室温で固化するマトリクスの選択肢に制限があるから、スピン拡散で多数の標的に配るタイプの試料セットアップとの適合性が低い、つまり汎用性を上げにくい。それでもOTP (溶解に高温が要るので生体分子にはきついかも) とか、UV照射で硬化する樹脂などの選択肢が挙げられる。比較的技術的に軽いマイナス数10°Cくらいの低温を許すなら、格段に汎用性が広がるだろう。

加えて、今のところ偏極のポンプ力が大変低く、偏極の蓄積に数百秒から千秒以上を要するのが問題だ。繰り返し感度で大損する。これは、①光励起の量子効率が低い、②スピンソーティングの効率が限られる、③室温では T_1 が短い (~秒) ため拡散前に緩和する、④トリプレット寿命が短い、などの理由による。あとは光励起で分子が劣化する問題、ブリーチングの問題も深刻である。磁場配向依存性の問題もある。したがって今後は、偏極剤の分子設計 (高いISC効率、大きなハイパーファイン相互作用、高い光安定性、長いトリプレット寿命) と、マトリクスの最適化 (長い T_1 、効率的なスピン拡散、光透過性) について、大幅な改善が要求される。つまり、マイクロ波光源の開発や調整から解放された分、ケミカルな側

面で重荷を背負うことになったようにも見える。

Triplet DNP：三重項状態に生じた電子スピン超偏極を、マイクロ波で直接核スピンの移すこともできる。マイクロ波は必要だが、低磁場でなら実績がある^[21]。ただ構造解析用の高磁場だと次第にマイクロ波工学が重くなる。低磁場で偏極して高磁場にシャトルもあり得るが、MASとの相性が悪く、積算や多次元測定に向かない欠点が残る。

7.3 ちょっと余談

「エンハンスメント10万倍」にはご注意ください：光励起の電子スピン超偏極を起点にしたDNPでは、「偏極の増強度10万倍」などの言葉に惑わされないことが重要である。現状で実行に移せる磁場が比較的低磁場条件であり(≪1Tなど)、核スピンの熱平衡偏極が小さい。つまり分母が大変小さく、報告される増強度はすごく大きく見える。けっして光励起の超偏極が普通のDNPより絶大な威力を持っているという意味ではないから注意が要る。たとえば、熱平衡偏極を利用する従来DNP法では16.4Tにおいて最大10%くらいの核スピン偏極を作れる。これは16.4Tの熱平衡偏極で言えばエンハンスメント2,000倍となるが、0.3Tの熱平衡偏極を分母に持ってくるとこれは10万倍のエンハンスメントとなる(達成している偏極率は同じなのに)。つまり、違う方法を並べて比較するようなときは、いつも達成できる偏極率のほうを報告するのが中立的だろう。トリプレット状態もダイヤモンドのNVセンターもそうだが、「100%に近い電子スピン偏極が得られる」夢のような技術のように言われるが、16.4 T、20 Kにおいて電子スピンの熱平衡偏極はすでに50%に達する。後者は磁場配向依存性もないし、寿命も長い。どちらの方法も、使い方次第というところであって、どちらかがとっても優位というわけではないのだ。室温で超偏極をするのがとても有利な研究対象、試料系なのであれば、光DNPはすごく魅力的だと言える。

DNPは信号が大きくなるから使えない?：ところで現状高磁場MAS-DNPは極低温化によってDNP効率を稼いでいる。これにより構造が柔らかい対象、たとえば一種のMOFとかタンパク質などは低温でコンフォメーションの分布(構造アンサンブル)が凍結して線幅となる。タンパク質分子はたくさんの信号を出すからさらに厄介

で、DNPで感度を上げて信号が重なり合って、解析を大変難しくする。この状況をどう捉えるか。DNP法の限界と捉えるのが正しいのだろうか。将来的には、室温DNPが実現し、不均一線幅に悩まされずに高感度NMRができる可能性はある。ただ、もう少し違うことも、よく考えなければならない。

話を低温に戻す。構造アンサンブルに伴った不均一線幅が問題なら、構造が硬い分子に限って解析すればよいのだろうか。タンパク質なら抗体など添え木のような分子を噛ませて、アンサンブルをどちらかに安定化してから解析すればよいのではないか。ともに結晶学者が採る手法である。これは批判すべきか。では、構造アンサンブルを溶液中で平均化し、*motional narrowing*で細い信号にしておいて、このデータをもとに構造を解くのはどうか。時間平均構造を知ること、より重大な意義があると言えるだろうか。どちらのケースも、これまで得られなかった構造情報が出てくれば、意義があると言える。いずれにしても、柔らかいものの「構造を決めたい」なんてこと自体がちょっとした矛盾を抱えているのかもしれない。それぞれの方法で決まった構造の意義を、方法論の限界を含めてよく議論する姿勢が重要になるだろう。

以上の考察を経て、その方法でないと取得できない構造情報を取るのが最も重要な研究姿勢と言える。その意味で、構造アンサンブルによる不均一線幅・信号の線型から構造アンサンブルを逆算する技術は的を射ている^[22]。タンパク質などでは特に、構造アンサンブル自体が機能に本質的なことが多い。柔らかいことをドローバックと捉えず、構造アンサンブルそのものを決定できる装置や方法論を開拓することは、ひとつの建設的な姿勢だろう。特にそれを細胞内の夾雑条件下で行う。これは(DNP-)NMRでしかできないのではないだろうか。

7.4 展望：DNPの未来

DNPは、NMRの本質的な低感度性を克服し、「高分解能かつ高感度」な測定を可能にする技術として、過去20年間で飛躍的に発展した。Cross Effect機構の深い理解と、バイラジカル分極剤の最適化により、高磁場でのMAS-DNPが実用化され、非標識試料や少量試料の構造研究に新たな地平を開いた。今後は、パルスDNP、光励起DNP、

PHIPなど、多様なアプローチが並行して発展し、それぞれの利点を活かした応用が拡大するだろう。パルスDNPは高磁場での最高性能を、光励起DNPは室温偏極と低コストを、PHIPは超高偏極率と低コストを、それぞれ実現する。

特に注目される応用領域は：

In-cell NMRとの融合：細胞内での分子間相互作用、相分離、凝集などのダイナミクスを、原子レベルの分解能で直接観測できる可能性は、構造生物学に新しい飛躍をもたらすだろう。神経変性疾患（アルツハイマー病、パーキンソン病など）におけるタンパク質凝集の初期過程、がん細胞での代謝変化、薬物の細胞内標的への結合など、従来は「ブラックボックス」だった細胞内現象の理解を進められる。

材料科学分野での界面・表面・ナノ構造の解析：界面は、材料の機械的物性、電気的物性、化学的反応性を決定する重要な要素だが、その原子レベル構造は未解明なことが多い。DNPにより、有機-無機界面（例：セメント中の水和物）、高分子-金属界面（例：接着剤）、触媒表面（例：ゼオライト）などの構造を、in situで解析できる。

医薬品開発への応用：医薬品の多くは非晶質または部分結晶性の固体として製剤化されるが、その分子レベル構造（薬物-賦形剤相互作用、分子分散状態、結晶化挙動など）は、溶出速度や安定性に大きく影響する。DNPにより、少量の開発初期サンプル（～mg）で、これらの情報を迅速に取得できれば、製剤設計の効率化につながる。

DNPは、NMR分光学の新たな時代を切り拓く鍵技術として、今後も発展を続ける。1953年のOverhauserの予言、Slichterの実証から70年を経て、DNPはようやく「実用技術」として成熟しつつある。次の70年で、どのような驚くべき応用が生まれるのか、期待は尽きない。

References

- [1] T. R. Carver and C. P. Slichter, "Polarization of nuclear spins in metals," *Physical Review*, vol. **92**, no.1, pp. 212–213, 1953, doi: 10.1103/PhysRev.92.212.2.
- [2] C. P. Slichter, "The discovery and demonstration of dynamic nuclear polarization—a personal and historical account," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. **12**, no.22, pp. 5741–5751, 2010, doi: 10.1039/c003286g.
- [3] I. Solomon, "Relaxation Processes in a System of Two Spins*," *Physical Review*, vol. **99**, pp. 559–565, 1955.
- [4] E. Ravera, C. Luchinat, and G. Parigi, "Basic facts and perspectives of Overhauser DNP NMR," *Journal of Magnetic Resonance*, vol. **264**, pp. 78–87, 2016, doi: 10.1016/j.jmr.2015.12.013.
- [5] C. D. Jeffries, "Polarization of Nuclei by Resonance Saturation in Paramagnetic Crystals," *Physical Review*, vol. **106**, p. 164, 1957.
- [6] D. S. Wollan, "Dynamic Nuclear Polarization with an Inhomogeneously Broadened ESR Line II. Experiments," *Physical Review B*, vol. **13**, p. 3686, 1976.
- [7] D. S. Wollan, "Dynamic Nuclear Polarization with an Inhomogeneously Broadened ESR Line I. Theory," *Physical Review B*, vol. **13**, p. 3671, 1976.
- [8] G. Menzildjian, J. Schlagnitweit, G. Casano, O. Ouari, D. Gajan, and A. Lesage, "Polarizing agents for efficient high field DNP solid-state NMR spectroscopy under magic-angle spinning: from design principles to formulation strategies," *Chem. Sci*, vol. **14**, p. 6120, 2023 doi: 10.1039/d3sc01079a.
- [9] Y. Matsuki and T. Fujiwara, "Cryogenic Platforms and Optimized DNP Sensitivity," *eMagRes*, vol. **7**, pp. 9–24, 2018, doi: 10.1002/9780470034590.emrstm1553.
- [10] K. R. Thurber and R. Tycko, "Theory for cross effect dynamic nuclear polarization under magic-angle spinning in solid state nuclear magnetic resonance: The importance of level crossings," *Journal of Chemical Physics*, vol. **137**, no.8, p. 084508, 2012, doi: 10.1063/1.4747449.
- [11] M. Kaushik et al., "Gd(III) and Mn(II) complexes for dynamic nuclear polarization: Small molecular chelate polarizing agents and applications with site-directed spin labeling of proteins," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. **18**, no.39, pp. 27205–27218, 2016, doi: 10.1039/c6cp04623a.
- [12] R. Yao et al., "Highly bioresistant, hydrophilic and rigidly linked trityl-nitroxide biradicals for cellular high-field dynamic nuclear polarization," *Chem Sci*, vol. **13**, no.47, pp. 14157–14164, Nov. 2022, doi: 10.1039/d2sc04668g.
- [13] T. V. Can et al., "Overhauser effects in insulating solids," *Journal of Chemical Physics*, vol. **141**, p. 064202, 2014, doi: 10.1063/1.4891866.
- [14] C. O. Bretschneider et al., "On The Potential of Dynamic Nuclear Polarization Enhanced Diamonds in Solid-State and Dissolution ¹³C NMR Spectroscopy," *ChemPhysChem*, vol. **17**, pp. 2691–2701, 2016, doi: 10.1002/cphc.201600301.
- [15] K. Kato, H. Takahashi, H. Tamaki, T. Fujiwara, and Y. Matsuki, "Nanodiamond-based hyperpolarization for in-situ magic-angle-spinning nuclear magnetic resonance spectroscopy of proteins," Aug. 30, 2023. doi: 10.26434/chemrxiv-2023-x9m17.
- [16] J. Ling et al., "Molecular mechanisms for stabilizing biologics in the solid state," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. **114**, pp. 736–765, 2025 doi: 10.1016/j.xphs.2024.11.017.
- [17] Z. Zhang, K. Kato, H. Tamaki, and Y. Matsuki, "Background signal suppression by opposite polarity subtraction for targeted DNP NMR spectroscopy on mixture samples," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. **26**, pp. 9880–9890 2024, doi: 10.1039/d3cp06280e.
- [18] T. V. Can, J. J. Walsh, T. M. Swager, and R. G. Griffin, "Time domain DNP with the NOVEL sequence," *Journal of Chemical Physics*, vol. **143**, no.

- 5, p. 054201, 2015, doi: 10.1063/1.4927087.
- [19] C. D. Joye, G. S. Member, M. A. Shapiro, J. R. Sigrigiri, and R. J. Temkin, "Demonstration of a 140-GHz 1-kW Confocal Gyro-Traveling-Wave Amplifier," vol.**56**, no.5, pp. 818–827, 2009.
- [20] F. De Biasi et al., "Light-Induced ^1H NMR Hyperpolarization in Solids at 9.4 and 21.1 T," *J Am Chem Soc*, vol.**146**, no.29, pp. 19667–19672, Jul. 2024, doi: 10.1021/jacs.4c06151.
- [21] A. Kagawa et al., "Triplet-DNP in magnetically oriented microcrystal arrays," *Journal of Magnetic Resonance*, vol.**351**, p. 107439 Jun. 2023, doi: 10.1016/j.jmr.2023.107439.
- [22] M. Takamuku et al., "Evolution of α -synuclein conformation ensemble toward amyloid fibril via liquid-liquid phase separation (LLPS) as investigated by dynamic nuclear polarization-enhanced solid-state MAS NMR," *Neurochem Int*, vol.**157**, p. 105345, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.neuint.2022.105345.



松木 陽 (まつき・よう)

2003 大阪大学大学院理学研究科・博士後期課程修了、博士(理学)
2003–2006 大阪大学蛋白質研究所・博士研究員
2006–2009 米・マサチューセッツ工科大学(MIT)・客員研究員
2011–2018 大阪大学蛋白質研究所・助教
2018.4– 大阪大学蛋白質研究所・准教授

溶液NMRでブロードな信号を与える化合物

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

越野 広雪

koshino@riken.jp

はじめに

溶液NMRを測定する際に、NMR信号の線幅が広がったブロードな信号が観測されて困ることがある。試料は均一に溶解してあり、シム調整もしっかり行っているにもかかわらず、化合物の性質によってNMR信号がブロードになっている場合である。分子全体のほぼ全ての信号がブロードになる場合と、一部の信号だけがブロードになることもある。NMR信号がブロードだとスピン結合定数や正確な積分値などの基本的なNMR情報を得るのが難しくなるし、 ^1H 観測の二次元NMRの測定において相関が得られ難いため問題になる。特に緩和時間の影響を受けやすいロングレンジ相関を観測するHMBCでは、ブロードな信号からの相関を得ることが困難なことも少なくない。何故NMRの信号がブロードになっているのか、その理由がわかれば解決できるかも知れないが、化学構造もわからない未知試料の場合には解析に四苦八苦してしまう。いくつかブロードな信号を与える化合物の事例をあげて、その原因について解説をする。

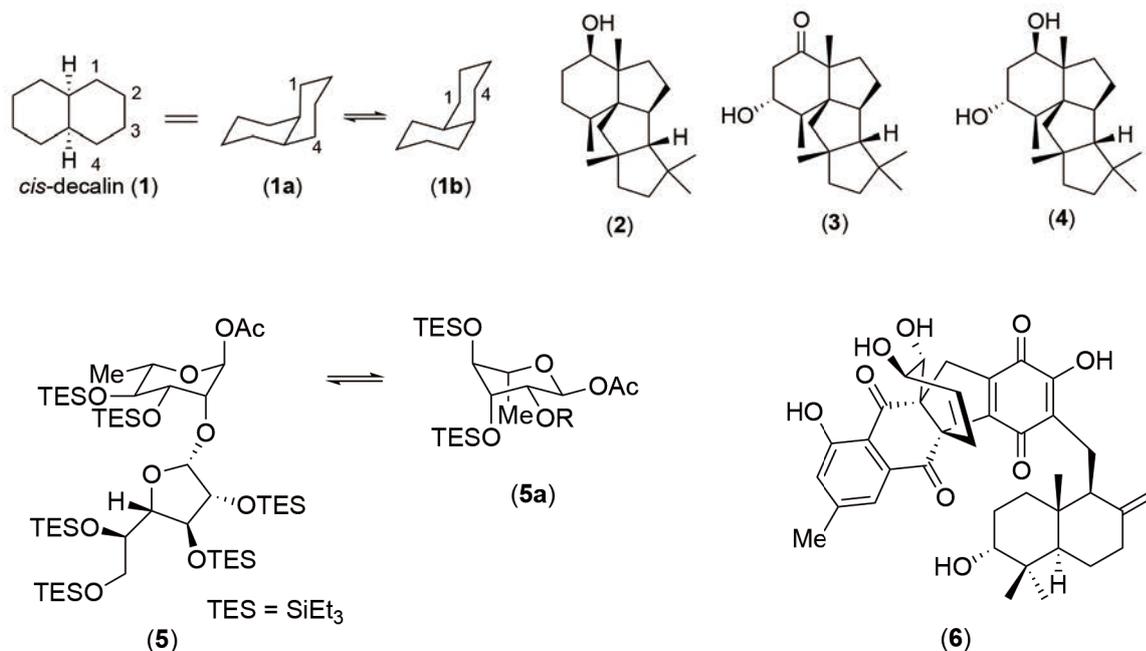
化学交換とNMR信号

化学交換している化学シフトの異なるNMR信号は、化学交換が十分に遅い場合には別々の信号として観測されるが、速い交換が起こる条件ではひとつの信号として観測される。典型的な例としては、ジメチルアミド (RCO-NMe_2) のメチル基の信号は、室温では別々の信号として観測される。これはアミドのカルボニル炭素と窒素の間の結合が二重結合性を有するためにアミド結合の回転が遅く、カルボニル酸素に対してシスとトランスのメチル基が区別されるためである。昇温していくと徐々にアミドの回転は速くなり、2つのメチル基の信号は1本になるが、その途中の温度ではメチル基の信号はブロードになる。交換性のOHやNHの信号も温度を高くするなど化学交換の速度

が速くなる条件では、交換性の信号どうしおよび系中に含まれる水との交換が速くなり、個別に観測されていた信号がブロードになり、さらには全く区別できなくなってしまう。このような化学交換がある系では、化学交換の速度を遅くすれば信号は区別されて観測され、一般的には低温側で測定することで信号が綺麗に分離してシャープな信号として観測される可能性が高い。また、条件検討として測定溶媒の選択も重要になる。

コンホメーションの変化

溶液NMRでコンホメーション間のエネルギー障壁が低ければ、複数のコンホメーションの平均値としてNMR信号は観測されるが、エネルギー障壁が高い場合にコンホマーに由来する信号が別々に観測されることがある。化合物によっては、温度可変の実験でコンホマーをNMR信号として分離して観測可能なことがあるが、信号が分離している状態から昇温し、信号が融合されて平均化された信号を観測される間の温度において、ブロードな信号が観測されることがある。ブロードになる度合いは、着目している信号の化学シフト差がコンホマー間でどの程度あるかにも依存するし、 ^1H NMRと ^{13}C NMRでも異なってくる。対称性のある化合物では、コンホメーションが変化しても同じ構造になるものもある。例えば *cis*-decalin (**1**) は、2つの6員環が椅子型からフリップして反転した椅子型へのコンホメーション変化が起こる。**(1a)** から **(1b)** への変化では、一方の環から見てアキシャルの位置にあるメチレン炭素C-1はエクソトリアル位置に変わり、エクソトリアル位置にあるメチレン炭素C-4はアキシャルになる。低温でコンホメーションの変化を十分に遅くすると、アキシャルとエクソトリアル位置のメチレン炭素は ^{13}C NMRで区別され、その隣のメチレンも同様に区別されるため、合計で5本の ^{13}C の信号が観測される。一方、高温側ではコンホメーションの変化



は十分に速くアキシカルとエクトリアルの違いは平均化されて *cis*-デカリンは¹³C NMRで3本の信号を与える。それらの途中の温度では、メチレンの信号はブロードになるが、メチン炭素はチャープなままである^[1]。

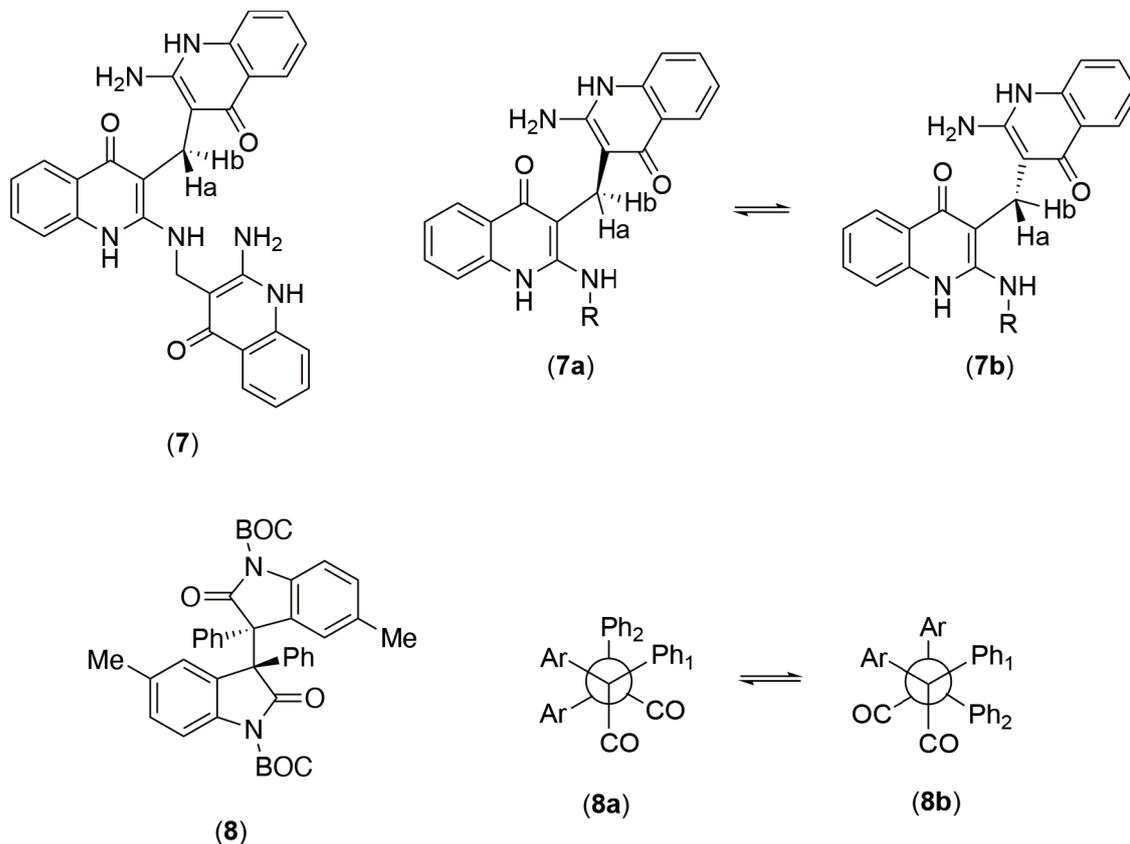
6員環と5員環の結合様式が *cis* の場合でコンホメーションの変化が遅いため信号が室温でブロードになる例として、deoxycondiogenol (2) を紹介する^[2]。この化合物は condiogenone (3) の生合成研究で見いだされた中間体で、(2) の室温での¹³C NMRはいくつかの信号がブロードに観測される。重トルエン中、−80℃で測定すると水酸基がアキシカルコンホマーが主成分として観測される。ブロードな原因は水酸基がエクトリアルのマイナーな配座も存在しているため、計算化学的には約8:2の比率と予測されているが、信号強度から判断するとマイナー成分は実際にはそれよりも少ないかも知れない。何にしろマイナーなコンホマーの存在と室温で遅い配座の変化があるためにNMR信号がブロードになった例である。

なお、同じ炭素骨格でも関連化合物の (3) や (4) などではNMR信号がブロードにはならないので、置換基の組み合わせで配座間のエネルギー差が小さい時にブロードな信号が観測されたとと言える。

糖においても置換基の影響で6員環が反転したり、フリップした配座が両方存在する場合がある。化合物 (5) は clostrienose という化合物の全合成中間体で、室温では¹H NMRがブロードに観

測されるが、CD₂Cl₂中、−35℃では6員環のラムノースユニットの部分の配座がフリップしたコンホマー (5a) 由来の信号も観測できる。嵩高いトリエチルシリル (TES) 基で水酸基を保護すると立体反発を避けるためTES基がアキシカルになりやすいことはよく知られている。なお、この化合物のアノマーであるOAcがエクトリアルの異性体ではNMR信号はブロードにはならない^[3]。

濃度によってNMR信号がブロードになった例として、neomacrophorin X (6) がある。この化合物は重クロロホルム中2mgではシャープな¹H NMR信号が観測できるが、8mgでは少しブロードになり、30mgくらいを溶かすとブロードになりカップリングも全く読み取れない状態になる。アグリゲーションを起こしているわけでもなく、当初は原因をすぐにはわからなかったが、測定溶媒を検討してみると、重メタノール中では、ジオール部分のメチン間のスピン結合定数が2.0Hzで、重クロロホルム中の7.2Hzより小さく、ジオールを含む6員環がフリップしていることが明らかになった。重クロロホルム中ではジオールはジエクトリアルで、重メタノール中ではジオールがジアキシカルになっているわけだが、水素結合が極性溶媒の影響で微妙に変化したと予想された。重クロロホルム中で濃度の影響が出た理由としては、化合物 (6) 自身の極性官能基の影響で濃度が高くなると、重メタノールに溶解したようなコンホマーの存在が増えてきて、両者のコンホマーが適度に遅く交換しているためにブロードなNMR信



号が観測されたと考えられた^[4]。

平面的に化学構造を見ると非等価に思えないメチレンプロトンがコンホマーを考慮すると非等価になり、非等価なメチレンプロトンが立体配座の変化に伴って入れ替わる場合にNMR信号がブロードになることがある。化合物(7)は2-aminoquinolin-4(1H)-oneのMannich反応による三量体生成物であるが、構造式にHa、Hbとして区別したメチレンプロトンは非等価に観測される。カルボニル酸素とアミノ基の間に水素結合があると水素結合を介した7員環になり、分子全体が平面よりは少し折れ曲がった構造になるため、メチレンプロトンは非等価になり、(7a)と(7b)のコンホマーでは、HaとHbの化学シフトは入れ替わっている。コンホメーションの変化が適度に遅いとHaとHbはブロードなダブルットの信号で観測される。この時、NHに結合しているメチレンのほうも同様にブロードな2つの信号として観測される^[5]。

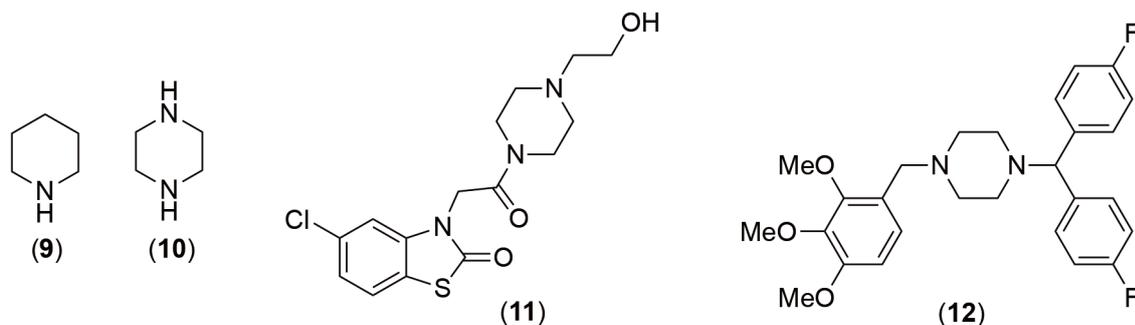
軸不斉に関する配座が適当な速度で変化する系などでもNMR信号がブロードになる場合がある。化合物(8)は3-phenyl-2-oxindoleのmeso型の2量体であるが、室温ではブロードなNMR信号を与え、 -70°C で測定した際には2組の信号として観測される。ゴーシュ型の配座(8a)と(8b)

はmeso体なので化合物としては同じコンホマーと言えるが、フェニル基をPh₁とPh₂として区別した場合にPh₁とPh₂が非等価であり、低温では別々のNMR信号を与えるが、室温ではPh₁とPh₂は遅い化学交換をしているのでNMR信号はブロードになる^[6]。

第3級アミンとアンモニウムイオン

窒素に3つのアルキル置換基がある第3級アミンはピラミッド型の構造をとり、置換基のない方向に非共有電子対を持つ。Piperidine(9)やpiperazine(10)などの環状アミンのNHをアルキル基で置換すると、その置換基は安定なエカトリアル配座になり、環状のメチレンプロトンはアキシャルとエカトリアルが区別されそうだが、実際には窒素の反転が速くて平均化されるためにメチレン信号は区別されない。第3級アミンがプロトン化されて第3級アンモニウムイオンになると、窒素の反転にはプロトンの脱離と反対側からのプロトン化という分子間の反応が必要になり第3級アミンより反転は遅くなる^[7,8]。

Tiaramide(11)の塩酸塩においてピペラジン環のメチレンプロトンは、アミド結合によるcis-transとヒドロキシエチル基が置換した窒素が第3級アンモニウムイオンとなり、8個のプロトンは全て

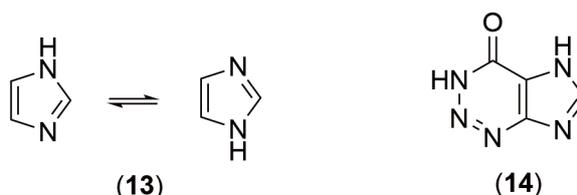


非等価で、DMSO- d_6 中室温ではややブロードな信号として観測される。(11)はフリーでは、ヒドロキシエチル基の置換した窒素は第3級アミンで反転は速いため、ピペラジン環の面に関する上下の区別はされず、アミド結合による *cis-trans* の区別のみで、ピペラジン環のメチレンは4個のトリプレットの信号として観測される。

Lomerizine (12)の2塩酸塩は、2つの窒素がアルキル基で置換されているため、プロトンとアルキル置換基の向きがピペラジン環の面に対して反対側を向く *trans* 体と、同じ側を向く *cis* 体の異性体が存在し、*trans* 体のほうが安定であるが、両異性体が存在し、さらに適当な速度で化学交換するため室温から低温でも NMR 信号はブロードになる。

互変異性とその他の状態変化

コンホメーションの変化以外に一般的に互変異性や分子間の相互作用など、NMRのタイムスケールで適度な構造的な変化と化学シフトの変化が起こる系において NMR 信号がブロードになることは起こり得る。Imidazole (13)は窒素に置換基がない場合、2つの窒素のプロトン化される位置は素早く交換している。測定溶媒など条件にもよるが、 ^1H NMR や ^{13}C NMR ではあまりブロードではなくても、 ^{15}N NMR においてピリジン型 (N=C) とピロール型 (NH=C) では ^{15}N の化学シフトが大きく化学交換が遅い条件ではブ

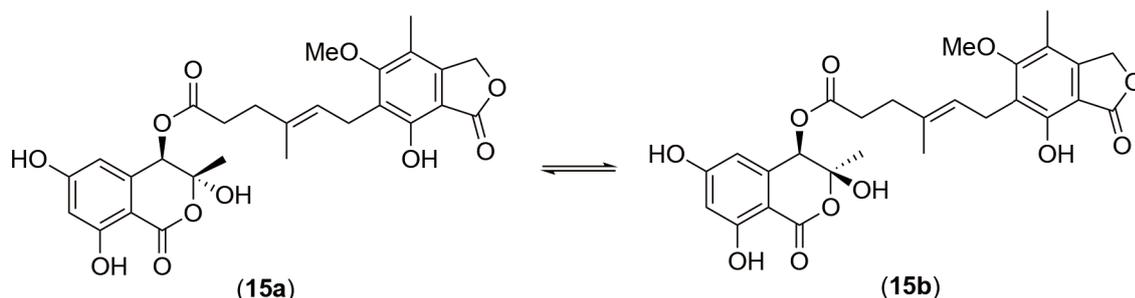


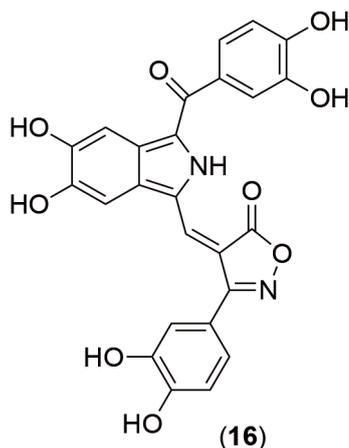
ロードになり、信号の観測自体が困難になることもある。化学交換が早い条件では、(13)の窒素は平均化された1本の信号を与える^[9]。AHX (2-azahypoxanthine) (14)でも ^{15}N NMR は同様である^[10]。

カルボン酸などでは、塩とフリーの状態では近傍の ^1H NMR の信号が変化するし、 ^{13}C NMR ではカルボニル炭素を中心に化学シフトが変化する。塩とフリーの状態が混合しているとそれぞれの中間的な化学シフトを与え、状態の変化の速度によって NMR 信号はブロードになって観測される。

糖の還元末端のアノマーは一般的に室温で区別されるが、F13459 (15)はラクトン環のヘミアセタールのエピメリ化が十分に室温でも起こるため、室温では NMR 信号がブロードになり、低温でエピマー (15a) と (15b) の混合物として NMR の解析は可能であった^[11]。

交換性の水酸基の信号が綺麗に観測できるか、ブロードになるかは化合物の性質の他に測定溶媒の影響が大きい。低温にできる測定溶媒で交換性プロトンのないものとして、DMF- d_7 、acetone- d_6 、THF- d_8 などが挙げられるが、関連する化合物の測定条件などを参考にさせていただきたい。一例とし





て最近構造決定を報告したアラゲキクラゲの赤紫色の色素 aragezolone (16) では、DMSO- d_6 中室温でブロードだった水酸基由来の信号は、THF- d_8 中 -30°C では全てシャープな信号として観測された^[12]。

おわりに

NMR 信号がブロードになる化合物、その現象の理由はさまざまであることを示したが、これらはほんの一例でしかない。化合物の構造と性質が十分にわからない場合には、測定溶媒、測定温度を基本に測定条件を検討してみるしかないが、そのための参考に少しでもなれば幸いである。

引用文献

- [1] Dalling, D. K., Grant, D. M. & Johnson, L. F. Conformational inversion rates in the dimethylcyclohexanes and in some cis-decalins. *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 3678-3682 (1971).
- [2] Shiina, T., Nakagawa, K., Fujisaki, Y., Ozaki, T., Liu, C., Toyomasu, T., Hashimoto, M., Koshino, H., Minami, A., Kawaide, H. & Oikawa, H. Biosynthetic study of conidation-inducing factor conidiogenone: heterologous production and cyclization mechanism of a key bifunctional diterpene syn-
- thase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **83**, 192-201 (2019).
- [3] Takahashi, S., Hama, T., Nogawa, T., Ogawa, N. & Koshino, H. Total synthesis of clostrienose. *ACS Omega*, **8**, 35382-35392 (2023).
- [4] Kusakabe, K., Honmura, Y., Uesugi, S., Tonouchi, A., Maeda, H., Kimura, K., Koshino, H. & Hashimoto, M. Neomacrophorin X, a [4.4.3]propellane-type meroterpenoid from *Trichoderma* sp. 1212-03. *J. Nat. Prod.*, **80**, 1484-1492 (2017).
- [5] Funk, P., Motyka, K., Soural, M., Malon, M., Koshino, H., Kusz, J. & Hlavac, J. Study of 2-aminoquinolin-4(1H)-one under Mannich and retro-Mannich reaction. *PLoS ONE*, **12**, e0175364 (2017).
- [6] Ohnishi, R., Sugawara, M., Akakabe, M., Ezawa, T., Koshino, H., Sohtome, Y. & Sodeoka, M. Cross-coupling reaction of dimer-derived persistent tertiary-carbon-centered radicals with azo compounds. *Asian J. Org. Chem.* **8**, 1017-1023 (2019).
- [7] Belostotskii, A. M., Gottlieb, H. E. & Aped, P. Crowded piperidines with intramolecularly hydrogen-bonded nitrogen: Synthesis and conformation study. *Chem. Eur. J.* **8**, 3016-3026 (2002).
- [8] Belostotskii, A. M. & Markevich, E. Conformational dynamics in nitrogen-fused azabicycles. *J. Org. Chem.* **68**, 3055-3063 (2003).
- [9] Alei Jr., M. & Wageman, W. E. ^{15}N NMR shifts for imidazole and 1-methyl imidazole in CH_2Cl_2 relative to aqueous solution. *Tetrahedron Lett.* **20**, 667-670 (1979).
- [10] Choi, J.-H., Fushimi, K., Abe, N., Tanaka, H., Maeda, S., Morita, A., Hara, M., Motohashi, R., Matsunaga, J., Eguchi, Y., Ishigaki, N., Hashizume, D., Koshino, H. & Kawagishi, H. Disclosure of the "fairy" of fairy-ring-forming fungus *Lepista sordida*. *ChemBioChem.* **11**, 1373-1377 (2010).
- [11] Koshino, H., Muroi, M., Tajika, T., Kimura, Y. & Takatsuki, A. F13459, a new derivative of mycophenolic acid. II. Physico-chemical properties and structural elucidation. *J. Antibiot.*, **54**, 494-500 (2001).
- [12] Onuma, H., Fukuhara-Ononai, K., Koshino, H., Muranaka, A., Uesugi, S., Yuki, S., Kanno, Y., Shi raishi, A. & Yano, A. Aragezolone, a novel purple-pink pigment with a unique structure and healthy benefits from the edible mushroom *Auricularia cornea*. *J. Agric. Food Chem.*, **73**, 17663-17671 (2025).



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

AI for Science時代におけるNMR研究基盤の再構築

¹自然科学研究機構生命創成探究センター/分子科学研究所、²名古屋市立大学大学院薬学研究科、

³理化学研究所生命医科学研究センター

加藤 晃一^{1,2}、木川 隆則³

kkatonmr@ims.ac.jp, kigawa@riken.jp

1. はじめに

近年、科学研究は、計測科学・計算科学・人工知能(AI)が互いの境界を緩やかに溶かし合いながら融合し、新たな研究様式を形成する時代に突入した。いわゆるAI for Scienceの潮流は、単に解析の高速化や省力化の範囲を超えて、研究プロセス全体——仮説生成、実験デザイン、データ取得、解析、そして次の計画立案——を循環的・自律的に最適化する方向へと研究構造を大きく転換させようとしている。この変革は、従来の実験科学がもっていた「測定者の技能」を中心とする構造から、「データ品質とモデル精度の往還」に重点が置かれる構造への質的变化を意味する。

この渦中において、NMR分光法は単なる分子構造解析手段ではなく、AIが“学習に耐えうる高密度データ”を供給する基盤計測として、その価値を再評価されている。NMRが本質的に備える多次元性、量子力学的整合性、時空間分解能の柔軟さは、複雑な生体分子・材料系を“動的存在”として理解するうえで極めて重要であり、AIが扱うべき情報のフォーマットとして相性が良い。また、超高磁場化、固体/溶液の枠組みを横断する技術革新、核種選択性の拡張、非標識による高次構造解析、自律型測定(Autonomous NMR)など、NMRそのものも急速に進化している。

本稿では、こうした技術動向、国際的研究インフラの再編、日本が抱える基盤的課題、そして国内における先端計測基盤の再構築に向けた取り組みを俯瞰しつつ、NMRの未来像を体系的に論じる。

2. 国際動向：

高磁場化の加速と研究インフラの再編成

NMRの国際的動向を俯瞰するうえでまず挙げべきは、いうまでもなく超高磁場化の加速である。2019年の1.1 GHz、2020年の1.2 GHzに続

き、2025年には1.3 GHzの磁場が実用段階へ進み^[1]、NMRはこれまで解析困難とされてきた複雑巨大系に再び挑む環境を手に入れた。我が国では、JST未来社会創造事業「高温超電導線材接合技術の超高磁場NMRと鉄道き電線への社会実装」において、理化学研究所が日本電子と協力して1.3 GHz装置の開発を進めている^[2]。高磁場がもたらす化学シフト分散の拡大、感度向上、遅い/速い運動モードの分離能力の改善は、巨大複合体^[3]、膜タンパク質^[4]、糖タンパク質^[5]、細胞壁・配向膜系^[6]、材料界面^[7]さらには機能発現に寄与する低存在状態^[8]といった多様な対象の構造・動態を視野に入れる新時代を拓いた。

欧州は、単一国家のみならず国家集合体としての地域レベルで超高磁場NMRを研究インフラの中核に位置づけ、国境を越えた装置共用を進めている(図1)。イタリアのCERM、スイスのETH、オランダ・フランスの連携拠点に加え、ドイツではマックス・プランク協会やフラウンホーファー協会と大学が協働して拠点形成を進めており、高磁場NMR、クライオ電子顕微鏡、質量分析、光学イメージングを統合した多モーダル研究基盤が着実に発展している^[9]。さらに、測定自動化や解析標準化の整備が進むことで、データの再現性と効率を高める仕組みづくりが加速している。ここに見られるのは、NMRが「一研究室の装置」から「社会的研究プラットフォーム」へと脱皮していく過程である(表1)。

この国際潮流は、日本が次の10年において競争力を維持するうえで避けて通れない参照軸となる。

3. 国内の課題：装置の老朽化、ヘリウム危機、人材基盤の脆弱性、制度設計の遅れ

国内のNMR基盤は、国際的発展に比して危機的課題を抱えている。多くの600~800 MHzの中



図1 超高磁場 NMR 装置の導入サイト
黒丸；1.2 GHz、黒四角；1.1 GHz、+；1 GHz。

表1 代表的な NMR 研究基盤ネットワーク

ネットワーク名	地域/国	参加 NMR 研究基盤数
NMR プラットフォーム	日本	8
創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS)	日本	3
マテリアル先端リサーチインフラ (ARIM)	日本	8
Instruct-ERIC	欧州	7
Swiss High-field-NMR Facility	スイス	3
Network for Advanced NMR (NAN)	米国	6
Pan-European solid-state NMR Infrastructure for Chemistry-Enabling Access (PANACEA)	米国・欧州	11

磁場装置は導入から十数年～20年が経過し、冷凍機故障や超電導磁石の保守限界がすでに見え始めている。装置が正常稼働するか否かが研究の成立そのものを左右する領域に入っており、こうした状況は全国で広く共有されつつある。また、液体ヘリウムの供給不安と価格高騰は超電導装置の持続運用に直結する問題であり、回収・再液化システムを整備しない限り、長期的安定運用は保証されない。

さらに、NMR技術者の雇用が任期制に依存している点も深刻である。高度化する測定技術を安定的に支える技能と経験をもつ人材が固定的に確保されず、結果として、装置再現性の低下、解析ノウハウの継承断絶、若手育成の停滞を招いている。加えて、NMR-PFは研究者コミュニティを支える重要な制度であるにもかかわらず、装置更新や雇用安定を支える枠組みが整っておらず、継続性が危ぶまれている。

これらは「個々の大学の努力」では到底解決し得ない構造的問題であり、日本における計測科学基盤の再設計が急務である。

4. 技術最前線：

NMRが切り拓く構造科学の深化と拡張

NMR技術の近年の進歩は、個別の手法ごとの発展というよりも、①超高磁場化、②固体/溶液の横断、③核種選択性の拡張、④非標識高次構造解析の4つの潮流として捉えると理解が深まる。これらの方向性は互いに密接に関連し、生命分子や材料の構造ダイナミクスをこれまでになく分解能で可視化する基盤を形づくっている。

4-1. 超高磁場化：構造揺らぎ・不均一性・

スペクトル重なりへの決定的な突破口

1.1-1.2 GHzを経て1.3 GHzに至る超高磁場化は、NMRの観測可能領域を量的のみならず質的

に変えつつある。高磁場化は単なる感度・分解能向上にとどまらず、スペクトルの縮重、構造不均一性、コンフォメーション交換による線幅増大といった、NMRが長らく抱えてきた基本的制約を緩和する方向へと働く。

この効果は、天然変性タンパク質 (IDP) や糖鎖のように構造アンサンブルが広く、複数の配座が平衡を形成する“揺らぎを本質とする分子”に対して特に顕著に現れる。IDPにおける微弱な配座偏りやアンサンブル間の遷移、あるいは糖鎖における複数平衡配座の存在率や交換速度といった情報は、高磁場で初めて精密な読み取りが可能になる。

マックス・プランク多分野科学研究所のグループによるIDPのエネルギー地形解析^[8]はその典型であり、アンサンブル間の微細な揺らぎを実験的に追跡する段階へと研究が押し上げられた。同様に、糖鎖に特有の信号重なりや構造不均一性も、高磁場化と多次元化によって大幅に解消され、配座平衡・交換速度・周囲環境との協調的動態を精密に記述できるようになってきている。

すなわち超高磁場化は、単一構造ではなく“揺らぎを含む構造状態”を本質とする分子に対して決定的意義をもち、これが現在のNMR技術の進化の中心にあると言ってよい。

4-2. 固体／溶液の枠組みを横断する技術革新：

多相ダイナミクスを扱う基盤としてのNMR

NMRは本来、溶液・固体のいずれの状態にも適用可能な手法であるが、両者は長らく別領域として発展してきた。近年、高速MASやダイナミクス選択的実験の進展により、膜タンパク質、アミロイド凝集体、中分子医薬、さらには材料系のような“中間の状態”をとる対象を、単一の連続体として記述できる環境が整いつつある^[10]。

生命分子においては、溶液中での柔軟性、膜界面での構造転写、細胞内での再編成といった環境依存的な可塑性を連続的に追跡できるようになり、この横断的發展は材料科学にも広がっている。固体電解質や電極界面を含む二次電池材料では、⁷Li、²³Na、³¹P、¹⁷Oなどを指標に、イオン輸送、局所構造の変調、界面反応、相転移といった一連のダイナミクスを統合的に捉えることが可能となった^[11, 12]。in situ / operando NMRの展開は、こうした“動きながら変化する構造”をリアルタイムで追跡する段階へ技術を押し上げている。

固体と溶液の連続体として多相ダイナミクスを記述するという観点は、多孔性材料である金属有機構造体 (MOF) にもそのまま拡張されつつある。固体NMRは、結晶相・欠陥構造・吸着種を同一の枠組みで扱えるため、X線回折では捉えにくい局所構造や配位不整、柔軟な骨格ダイナミクスを原子レベルで明らかにしてきた^[13]。高速MASや高磁場・多次元相関測定の発展により、低感度核や強い四極子相互作用をもつ金属サイトについても、局所対称性の乱れ、脱溶媒和やゲスト吸着に伴う配位環境変化、相転移や無秩序化といった現象をスペクトルとして読み解くことが可能になっている。さらに、in situ / operando NMRを導入することで、ガス吸着・触媒反応・電気化学駆動型の吸脱着といった「孔内で進行する反応」と骨格応答を、溶液状のゲストと固体フレームワークの双方を含む多相系として連続的に追跡する試みも進んでいる。

結晶相・非晶相・界面相・中間体が複雑に混在する材料系では、従来の構造解析手法のみでは全体像を描くことが難しいが、NMRはこれらの状態を区別しつつ同一の物理量として扱える点に独自の価値がある。生命分子と材料科学の双方において、多相的な構造・反応・輸送を一貫して読み解くための基盤として、固体／溶液を横断するNMRの意義はますます高まりつつある。

4-3. 観測モードの多元化：核種選択性と非標識解析が拓く新しい視点

NMRにおける観測モードの多元化は、構造科学における情報取得の幅を大きく広げている。核種レパートリーの拡張はその代表的な現れであり、¹³C・¹⁵Nの洗練に加え、化学シフト分散が広く表面環境の変化に敏感な¹⁹Fの利用は、分子の別の側面を読み取るための有力な手段となってきた^[14]。¹⁹Fは局所環境変化や結合事象を鋭敏に反映するため、創薬研究やin-cell計測において存在感を高めている。また核種選択性の拡張は、糖鎖のように信号密度が高く構造不均一性に富む分子系に対しても、埋もれた情報を選択的に抽出するための有効な戦略となる。

これと並行して、非標識NMR (ラベルフリーNMR) はクライオプローブ (高感度検出器) 技術の進展とXL-ALSOFAST-HMQC^[15]に代表される洗練されたパルスシーケンスの開発を通じて、タンパク質の“ありのままの状態”を観測する方

法として成熟してきた。標識を施さずに得られるスペクトルの微細な変化は、抗体医薬に代表される糖タンパク質分子の高次構造や集合状態、品質のわずかな差異を鋭敏に反映する。非標識測定は、標識導入が難しい分子や製造ロット差を評価したい場面でも実装しやすく、かつ、構造不均一性・ゆっくりした交換・状態分布の広がりといった複雑な現象を、そのままの形で読み取ることができる。

核種選択性の拡張と非標識解析という2つの方向性は、いずれも分子の“複数の視点”を獲得するための手段であり、とりわけ柔軟性が高く多様な構造状態をとる分子に対して、その実体により深く迫るための補完的なアプローチとなっている。こうした観測モードの多元化は、AI解析との統合においても大きな可能性を秘めており、分子の動態や構造不均一性を複数の座標軸から学習させるための基盤として重要性を増している。

5. AI × NMR：自律型科学が立ち上がる過程での緩やかな統合

AIの導入は、NMRの解析様式と測定戦略に段階的な変革をもたらしている^[16]。ARTINAのように帰属や構造推定を自動化する手法は、研究者が膨大な時間を割いてきた解析作業を標準化し、再現性を高める方向に研究を押し上げた^[17]。深層学習によるノイズ除去やvirtual decouplingは、測定の物理的制約を緩和し、より短時間かつ高分解能の測定を可能にする^[18, 19]。さらに、構造からスペクトルを生成するAIモデルの台頭によって、NMRにおける「構造－信号」関係の逆問題は、計算科学・機械学習と融合した新たな解析基盤を築きつつある。

これらの個別技術の積み重ねの先には、AIが測定条件の探索や実験計画の最適化を行い、研究者の意図を受け取って自律的に測定・解析をループさせる“自律型NMR (Autonomous NMR)”という未来像が徐々に姿を現している^[16]。NMRは測定が非破壊であり、高密度かつ多次元のデータを連続的に生成できるため、AIとの親和性が高く、AI for Scienceの中核計測の一つとして自然に位置づけられるようになりつつある。

6. 研究基盤の再構築：

我が国では、NMRを含む先端計測基盤の再編が段階的に進んでおり、その一例として、スピン

計測、生命計測、全国的な装置ネットワークが相互補完的に機能する“多層型モデル”が形成されつつある。スピン計測を横断的に扱う枠組みとしては、岡崎の生理研、分子研、生命創成探究センター (ExCELLS) を中核とする「スピン生命フロンティア」が、NMR・ESR・MRIを基軸とする技術開発や人材育成を進める拠点として機能しつつあり、京都大学 化学研究所、大阪大学 蛋白質研究所、新潟大学 脳研究所、量子科学技術研究機構の4つの連研究機関との連携を通じて次世代計測の創出に貢献している^[20]。そのなかでExCELLSでは、質量分析、高速原子間力顕微鏡、クライオ電子顕微鏡、光学イメージングなどの多様な計測技術を統合することで分子から細胞に至る多階層データの統合解析が進みつつある。また、NMR プラットフォーム (NMR-PF) は、国内各地に設置された先端的NMR装置の共同利用を推進し、教育・技術支援・遠隔利用といった多面的な支援を通じて研究コミュニティを長年にわたり支えてきた^[21]。こうした分散型の計測環境において、NMR-PFはNMR研究者支援の中核的役割を担い、装置資源の有効活用と技術力の底上げに重要な貢献を果たしている。このような「集中」と「分散」が補完し合う構造は、日本の計測科学の一つの特徴的な姿であり、大学・研究機関・地域拠点を含む広い生態系のなかで多様な装置群が連携することで、国際競争力をもちうる強固な計測基盤へと発展する可能性を秘めている。

7. 結語

AI for Scienceの進展は、NMR分光法の役割と可能性を大きく押し広げている。超高磁場化、AI解析、自律測定、多階層計測の統合によって、NMRは単なる分光法から“知的インフラストラクチャー”へと変貌しつつある。国内では、高磁場装置や多核種対応プローブの整備、全国的な計測ネットワークの形成、そしてAIと高性能計算 (HPC) を統合したAI・HPC基盤との連携が着実に進んでおり、今後10年で国際的に競争力をもつ研究基盤へ発展する可能性が高い。

筆者が関わる未来型の学術振興構想「ミクロコスモスに挑む生命シミュレータの創成」についても触れておきたい。本構想では、分子から細胞、個体に至る生命現象を統合し、メタバースと実空間を併用した実験環境から得られる膨大なデータを基盤として生命理解を目指している^[22]。この

ようなデータ駆動型アプローチにおいては、高精度の分子計測データをもたらすNMRが不可欠な位置を占める。構想自体は本稿の主題ではないが、AI時代におけるNMRの応用領域が、生体高分子解析を超えて、生命システム全体の統合理解を支える基盤へと拡張しつつあることを示す好例である。

NMRは、生命科学、材料科学、創薬科学を支える中心的計測手法であり続けるだけでなく、AIと計測科学が融合する次の時代において、研究と技術革新を下支えする“知の基盤”として、その重要性を一層高めるだろう。

引用文献

- [1] <https://ir.bruker.com/press-releases/press-release-details/2025/Bruker-Announces-First-of-a-kind-1-3-GHz-High-Resolution-NMR-System/default.aspx>
- [2] https://www.jst.go.jp/mirai/jp/uploads/saitaku2017/IPMJMI17A2_summary.pdf
- [3] Xie, T., Saleh, T., Rossi, P. & Kalodimos, C.G. Conformational states dynamically populated by a kinase determine its function, *Science*, **370**, eabc2754 (2020).
- [4] Nimerovsky, E., Movellan, K.T., Zhang, X.C., Forster, M.C., Najbauer, E., Xue, K., Dervisoglu, R., Giller, K., Griesinger, C., Becker, S. & Andreas, L.B. Proton Detected Solid-State NMR of Membrane Proteins at 28 Tesla (1.2 GHz) and 100 kHz Magic-Angle Spinning, *Biomolecules*, **11**, 752 (2021).
- [5] Armiento, S., Oglio, F., Masino, A., Iovine, A., Trivelli, X., Molinaro, A., Guerardel, Y., Berni Canani, R. & De Castro, C. The glycocalyx of *Lactobacillus paracasei* NPB01 presents two different rhamnose-rich polysaccharides with non-equivalent immunomodulating activities, *Carbohydr. Polym.*, **364**, 123742 (2025).
- [6] Safeer, A., Kleijburg, F., Bahri, S., Beriashvili, D., Veldhuizen, E.J.A., van Neer, J., Tegelaar, M., de Cock, H., Wosten, H.A.B. & Baldus, M. Probing Cell-Surface Interactions in Fungal Cell Walls by High-Resolution (1) H-Detected Solid-State NMR Spectroscopy, *Chemistry*, **29**, e202202616 (2023).
- [7] Gioffre, D., Florian, P., Pigeon, T., Raybaud, P., Chizallet, C. & Coperet, C. Classification and Identification of Facet- and Edge-Specific gamma-Al(2)O(3) Surface Sites from (1)H/(27)Al NMR Cross-Signatures and DFT Modeling, *J. Am. Chem. Soc.*, **147**, 6934-6941 (2025).
- [8] Szöllösi, D., Pratihari, S., Mukhopadhyay, D., Rout, A.K., Reddy, G.J., Ebersberger, N., Becker, S., Nagy, G., Rauscher, S., Lee, D., Klement, R., Griesinger, C. & Grubmüller, H. Hierarchically ordered multi-timescale structural dynamics of the intrinsically disordered p53 transactivation domain, *bioRxiv*, 2025.2008.2001.668138 (2025).
- [9] <https://instruct-eric.org>
- [10] Andreas, L.B., Jaudzems, K., Stanek, J., Lalli, D., Bertarello, A., Le Marchand, T., Cala-De Paepe, D., Kotelovica, S., Akopjana, I., Knott, B., Wegner, S., Engelke, F., Lesage, A., Emsley, L., Tars, K., Herrmann, T. & Pintacuda, G. Structure of fully protonated proteins by proton-detected magic-angle spinning NMR, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 9187-9192 (2016).
- [11] Grey, C.P. & Tarascon, J.M. Sustainability and in situ monitoring in battery development, *Nat. Mater.*, **16**, 45-56 (2016).
- [12] Basse, E.N., Reeves, P.J., Seymour, I.D. & Grey, C.P. (17)O NMR Spectroscopy in Lithium-Ion Battery Cathode Materials: Challenges and Interpretation, *J. Am. Chem. Soc.*, **144**, 18714-18729 (2022).
- [13] Brunner, E. & Rauche, M. Solid-state NMR spectroscopy: an advancing tool to analyse the structure and properties of metal-organic frameworks, *Chem. Sci.*, **11**, 4297-4304 (2020).
- [14] Kitevski-LeBlanc, J.L. & Prosser, R.S. Current applications of 19F NMR to studies of protein structure and dynamics, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **62**, 1-33 (2012).
- [15] Rossler, P., Mathieu, D. & Gossert, A.D. Enabling NMR Studies of High Molecular Weight Systems Without the Need for Deuteration: The XL-ALSOFAST Experiment with Delayed Decoupling, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **59**, 19329-19337 (2020).
- [16] Kuhn, S., de Jesus, R.P. & Borges, R.M. Nuclear Magnetic Resonance and Artificial Intelligence, *Encyclopedia*, **4**, 1568-1580 (2024).
- [17] Klukowski, P., Riek, R. & Guntert, P. Rapid protein assignments and structures from raw NMR spectra with the deep learning technique ARTINA, *Nat. Commun.*, **13**, 6151 (2022).
- [18] Zhan, H., Fang, Q., Liu, J., Shi, X., Chen, X., Huang, Y. & Chen, Z. Noise reduction of nuclear magnetic resonance spectroscopy using lightweight deep neural network, *Acta Phys.-Chim. Sin.*, **41** (2025).
- [19] Karunanithy, G., Mackenzie, H.W. & Hansen, D.F. Virtual Homonuclear Decoupling in Direct Detection Nuclear Magnetic Resonance Experiments Using Deep Neural Networks, *J. Am. Chem. Soc.*, **143**, 16935-16942 (2021).
- [20] <https://www.nips.ac.jp/spin/>
- [21] <https://nmrpf.jp>
- [22] <https://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-25-t353-3-78.pdf>



加藤 晃一 (かとう・こういち)

1991年 東京大学 大学院薬学系研究科 博士課程修了

1991年～1997年 同 助手

1997年～2000年 同 講師

2000年～名古屋市立大学 大学院薬学研究科 教授

2008年～2018年 自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授

2018年～自然科学研究機構 生命創成探究センター 教授



木川 隆則 (きがわ・たかのり)

1994年 博士(理学)取得 東京大学大学院理学系研究科(指導教官:横山茂之先生)

1994年 理化学研究所 細胞情報伝達研究室

2001年～同・ゲノム科学総合研究センター、生命分子システム基盤研究領域、
生命システム研究センター、生命機能科学研究センター、
生命医科学研究センター

2008年 東北大学 客員教授

2024年～2026年 日本核磁気共鳴学会 会長

次世代NMRワーキンググループ活動報告 基礎から学ぶ最新NMR解析法 第10回ワークショップ －NMRが繋ぐ分子現象基盤の創薬研究－

旭化成ファーマ株式会社 医薬研究センター モダリティ研究部

八木 宏昌

yagi.hh@om.asahi-kasei.co.jp

はじめに

次世代NMRワーキンググループ（以下、「次世代NMR WG」という。<https://nextnmr.jp/>）は、「NMRを学んで未来を創る」をコンセプトとして、2020年から活動が続いているワーキンググループである。産学官・年齢・分野を問わず、NMRに少しでも興味のある方を対象に、蛋白研セミナーの枠組みや日本生物物理学会のサブグループ支援制度（日本生物物理学会 次世代NMR WG）を活用し、定期的なワークショップやスピノフ会を継続的に開催することで、NMRの普及に向けた草の根活動を行っている。本報告では、その活動の一環である「基礎から学ぶ最新NMR解析法シリーズ」第10回、「NMRが繋ぐ分子現象基盤の創薬研究」の開催内容について紹介する。

シアム（創薬コンソ）^[1]のBioNMRワーキンググループ（BioNMR WG）との合同で開催し、会場は中外ライフサイエンスパーク横浜講堂をお借りした。アカデミック研究者と製薬企業研究者の対話を通じ、今後の創薬研究にNMRをどう活用していくかを議論することを目的に（図1参照）、1）講演と2）パネルディスカッションの2部構成で開催した。1）講演では、アカデミック側からは、東京大学の外山侑樹先生、東京都立大学の池谷鉄兵先生、企業側からは、エーザイの守谷潤先生、中外製薬の奥出順也先生にご講演いただいた。2）パネルディスカッションでは、アカデミックと製薬企業の連携、今後の目指す姿に関して深く議論を行った。

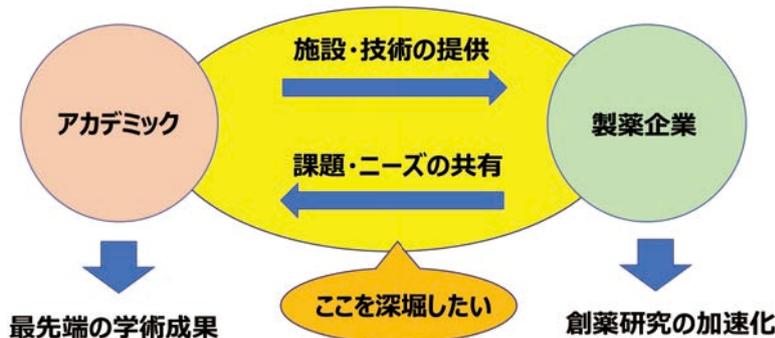
1) 講演

アカデミック側から最新のNMR手法・解析法を紹介していただいた。外山先生には、CPMG緩和分散法によるタンパク質のダイナミクス解析に関して、理論と実際の測定・解析法、またその際の注意点等を丁寧に解説していただいた。池谷

「NMRが繋ぐ分子現象基盤の創薬研究」概要

第10回目のワークショップは、2025年2月19日に「NMRが繋ぐ分子現象基盤の創薬研究」というテーマで開催した。今回のワークショップは製薬企業で構成される創薬産業構造解析コンソー

アカデミックと製薬企業の連携：目指す姿



WinWinの関係を構築し、NMR全体のプレゼンス向上を目指したい

図1 本ワークショップの目的

先生には、複数の構造が存在する場合に、それらの構造をNMRでどのように決定し、評価していくのかについて、NOEベースの構造解析の基礎からご説明いただき、さらにPCS、PRE、RDCなどから得られる各種パラメータの活用方法についてご講義いただいた。

一方、企業側からは、創薬現場におけるNMRの活用事例をご紹介いただいた。守谷先生には、低分子創薬におけるNMRの利用に関するご講演において、低分子化合物と標的分子の相互作用解析をはじめ臨床薬の作用機序を明らかにすることにNMRが活用されているとのご紹介いただいた。奥出先生には、低・中分子、抗体など様々なモダリティーの創薬におけるNMRの活用に焦点を当てて、高次構造解析による機能性評価や、生体に近い条件での結合試験、選択性評価などにNMRが利用されていることをご紹介いただいた。

2) パネルディスカッション

パネルディスカッションでは、4つのテーマに対してアカデミックおよび製薬企業の方々に登壇していただき活発なディスカッションを行った。

テーマ

1. 製薬企業におけるNMRの活用法
2. NMR研究が今後進む方向
3. アカデミックが企業に求めること
4. 企業がアカデミックに期待すること

【パネラー】

アカデミック：竹内恒（東大）、宮ノ入洋平（阪大）、日比野絵美（名古屋大）、外山侑樹（東大）、池谷鉄兵（都立大）

製薬企業：鳥澤拓也（中外製薬）、加藤輝和（塩野義製薬）、佐宗新（旭化成ファーマ）

以下にそれぞれのテーマにおけるディスカッションの内容を記載する。

テーマ1. 製薬企業におけるNMRの活用法

創薬現場でのNMR活用法の紹介と現状の課題について議論を行った。まず、企業側から企業における活用法と現状の課題を紹介いただいた。課題に関しては、主に以下の2点があげられた。

- ・信号帰属を含めたスピード感
- ・他の手法との差別化

信号帰属のスピードに関しては、自動帰属 soft-



講演の様子



パネルディスカッションの様子

wareを使うことで改善できることがアカデミック側から提案された。その一方で、ARTINA等のWebベースのソフトはライセンスの問題があり企業では使用できない場合もあるとの意見があった。これについて都立大の池谷先生から、開発者と協議を進め今後ARTINAを部分的にオンプレミス環境に移すことも検討するとの意見があった^[2]。

また、メチル基の信号帰属に関しては、現状、変異+NOEで行うことが一般的であるが、完全性・確度をどの程度まで求めるのかを見極める必要があるのではないかとコメントがあった。アカデミアの場合は完全を目指す場面が多いが、創薬ではスピードとの兼ね合いで必要な残基のみの帰属を実施することが重要だという意見があった。見たいところの信号が見えない場面どうしたらよいかという意見に対しては、FID-Net^[3]等を使ってスペクトルを生成することはできるが、それがどこまで信頼できるかは研究者の判断に委ねなければならないということであった。

他の手法との差別化に関しては、NMRは細胞内環境あるいはマイナー状態などの解析ができるという点に強みがあるため、汎用的ではないかもしれないが切り札がある技術であるとのコメン

トがあった。アカデミック側からは、そのあたりを企業内で内包化してもらいたいとの提案があった。NMRはフレキシブルな使い方ができるからこそ、それを明確に提示するところに難しさがある。アカデミアのほうで使い方が提示できるとよいのではないかというコメントがあった。

テーマ2. NMR研究が今後進む方向

ここでも他の手法との差別化が話題となった。NMRでしかできないことを行うことの重要性が共通の認識であった。具体的には、天然変性タンパク質やRNAまたは中分子などが標的対象としてあげられ、それらにダイナミクス情報を組み込んでいくことが重要ではないかという意見があった。RNAはタンパク質以上にダイナミックなものであり、金属イオンや塩基対のかけ違いなど、その多面性はNMRでこそ見えるものであるとのコメントがあった。企業側からは、ダイナミクスを薬物設計に活かす際、タンパク質のダイナミクスは止めるべきか促進させるべきかで悩むという意見があった。さらに、現状ではFast exchangeの系に対して適用するケースが多く、化合物が成熟していくと解離速度定数 (k_{off}) が遅くなり、NMRの活用が少なくなってしまう印象があるとのコメントがあった。これに対し、アカデミア側からは、ケースバイケースで統一見解を示すことが難しい、他の手法、例えばITCと組み合わせて、それらの値と相関をとることで方針を立てていくのがよいというコメントがあった。また、ダイナミクスと親和性の評価に関しては、アカデミアからも研究に取り組めるとよいとのコメントがあった。

感度向上のためのDNPの利用に関しては、偏極剤の寿命が短いのが難点であり、現時点では1D測定がやっとという状況であり今後の開発に期待、とのコメントがあった。

テーマ3. アカデミックが企業に求めること

現状の共同利用に対するスタンスについて議論があがった。企業研究のタイムスケールにフィットしたサポートが提供できているのか？ 企業からのニーズを知りたいとの意見があった。企業側からは、共同利用は非常に役立っていると意見がある一方で、スピードへの対応が課題としてあげられた。マシンタイムが空いているなら明日にでも使いたい。1週間は待てない。そこに対応して

もらいたいという要望もあった。受け入れ側からは、情報が開示できない(企業側からの情報が不足している)場合もあり、測定を設計するうえでベストな判断ができない場面も多い。情報セキュリティ上の対応が大変なこともあるが、ソフトウェアなどアカデミアも企業も両方が対等に使いやすいような体制になるとよいという意見があがった。技術力については、アカデミアも企業もそれぞれの強みがあり相補的であり、企業とアカデミアの人材の行き来はもっと活発でもよいのではという意見があった。

人材育成の観点では、アカデミック側からは大学で教えたことが必ずしも企業で反映されていないように感じ、どのような教育をするべきなのか悩ましく、また学生自身も「どうせリセットされるなら、早くに企業に行くべき」という考え方になってしまうとの意見があがった。企業側からは、スキルを活かしてほしいという思いはあるが、本質はそこではなく、どれだけ「考える力」が養われているかが重要であるというコメントがあった。また、「考える力」を身につけるうえでNMRは恵まれており、データから考察して実験系を組み立てるというプロセスを通して「考える力」を養うよい機会であるとの意見があった。教育に関しては、アカデミアとしての課題であるとの意見もあがった。

テーマ4. 企業がアカデミックに期待するところ

企業側からは、スピードが求められていた。通常は、化合物を作成してから数日後に返ってきた評価結果を基に次の化合物を設計するため、例えば外部利用の予約が1か月後では遅い。探索研究でNMRを使うのであれば、すぐに使えるような予約体制があるとよい、という意見があがった。また一方で、装置自体は使いやすいと感じているが、どのような成果が得られるかという目的に応じたパッケージ・価格設定があるとよい、という意見もあがった。これに対し、アカデミック側からは、ニーズとマッチさせた体制作りはアカデミアでも目指したいが、そこにはコストがかかるし継続的な利用が期待され、双方の覚悟が必要になるとの意見があった。企業側からは、外部を使おうと思った際、どこまで最適化されているものなのかがはっきりしない。今後、企業、アカデミック双方で体制の最適化を議論していきたいという意見があがった。

教育に関しても議論された。アカデミック側からは、ユーザーを増やすのが大事であり、そのため学生の教育を行っているが、企業側では新入社員などにNMRを教育する場面はあるのか、またNMR人材を育てる場面はあるのか、という意見があがった。これに対し企業側からは、NMRの教育は難しくアカデミアに期待したいという面もある。そうは言っていられない面もあるので企業側でも他の専門の人が参入できるように教育していきたい、という意見もあった。また、ユーザーを増やすという点については、技術だけではなく、考え方、使い方の面も大事であり、こういったことから興味を持つ人が増えるのではないかとのコメントがあった。NMR、特にBioNMRは、トラブルシューティングを含め入門者にはわかりにくく、装置によっても使い方が違うため、人材交流は大事であり、アカデミアと企業の関わりは今後より重要になってくるのではないかとのコメントがあった。

おわりに

製薬業界は近年、大きな環境変化に直面している。まず、新しい作用機序の創薬ターゲットが枯渇しつつあり、創薬研究の難易度はこれまで以上に高まっている。その結果、ひとつの薬の開発費が数千億円規模に達するなど、コスト負担は増大している。また、抗体医薬や核酸医薬などのバイオ医薬品へのシフトが進み、企業には新たな技術基盤の構築が求められている。さらに、AI創薬やリアルワールドデータ活用の進展により、研究

開発の在り方も大きく変化している。こうした流れのなかで、今後NMRをどのように活用していくかは重要な課題である。一方、アカデミアにおいては、超伝導磁石の導入・維持にかかる高額な費用負担や人材育成といった多くの課題が存在する。このような企業側・アカデミア側双方の課題を解決するには産学連携が不可欠であり、いかにして互いにWin-Winの関係を構築し、NMR分野全体のプレゼンス向上に繋げていくかを、今後も継続して議論していく必要性を感じている。

謝 辞

本ワークショップの開催にあたり、会場設営や運営に関して中外製薬株式会社タンパク質科学研究部の皆様には多大なるご支援を賜りました。ここに深く感謝申し上げます。

参 照

- [1] 創薬に関わる物質の構造解析に関わる会員共通の利益に関する事業等を行う非営利の任意団体。2025年現在、16社の企業が参加しており4つのWGが活動中(放射光、CryoEM、低分子解析、BioNMR)。BioNMR WGには、13社27名が登録。次世代NMR WGとは、過去数回にわたり測定のTipsや情報交換などで交流を行っている。
- [2] 現在、Bruker社が企業向けにNMRtist@Brukerをオープンし、ライセンス契約を結べばARTINAをBrukerサーバー上で利用可能。<https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mr/nmr-software/nmrtist.html>
- [3] Karunanithy, G. & Hansen, D. F. FID-Net: A versatile deep neural network architecture for NMR spectral reconstruction and virtual decoupling. *J. Biomol. NMR*, **75**, 179-191 (2021)

中外製薬株式会社 タンパク質科学研究部 タンパク質科学5G生体系NMRチームのご紹介

中外製薬株式会社 タンパク質科学研究部 タンパク質科学5G生体系NMRチーム

岩川 直都

iwakawa.naoto29@chugai-pharm.co.jp

1. はじめに

私は2021年に中外製薬株式会社に入社し、研究本部タンパク質科学研究部5G生体系NMRチームの研究者として創薬研究に取り組んでいます。本稿では、中外製薬研究本部におけるNMR設備と生体系NMRチームにおける創薬研究についてご紹介します。

2. 中外製薬株式会社について

中外製薬は「革新的な医薬品とサービスの提供を通じて新しい価値を創造し、世界の医療と人々の健康に貢献します」というミッションのもと、研究開発型製薬企業として事業を展開しています。1925年の創業以来、「世の中の役に立つくすりをつくる」という創業者の想いを受け継ぎ、2002年にはスイスのロシュ社と戦略的アライアンスを開始しました。

当社の強みは「技術ドリブン」の創薬アプローチにあります。特に抗体エンジニアリング技術では世界トップクラスの技術を有し、これまでに、バイスペシフィック抗体である血友病A治療薬「ヘムライブラ」、pH依存的結合抗体技術を用いた「エンスプリング」など、革新的な抗体医薬品を世に送り出してきました。低分子医薬品においても、ALK阻害剤「アレセンサ」は、当社が創製したALK陽性非小細胞肺癌治療薬として、世界中の患者さんに貢献しています。また、中分子創薬にも10年以上前から投資し、独自の中分子創薬技術を確立しています。このように低分子から高分子まで多様なモダリティによる高い創薬力を持ち、2021年からは新たな成長戦略「TOP I 2030」を掲げ、研究開発のアウトプット倍増を目指しています。

3. 中外LSP横浜のNMR設備

2022年10月に竣工した「中外ライフサイエン

スパーク横浜」(中外LSP横浜)は、従来の富士御殿場研究所および鎌倉研究所を統合し、2023年4月から稼働を開始した最先端の研究拠点で、1,000名以上の研究者やスタッフが勤務しています。横浜研究所は、異分野の研究者の交流や知識の融合からイノベーションを生み出すべく、様々な設計上の工夫が施されています。実験棟と研究者の居室棟を連結する「スパイン」と呼ばれる300mの廊下には、ミーティングやコラボレーションのための共有空間が設置され、研究者同士の会話や活発な議論を生み出しやすいデザインとなっています。

中外LSP横浜の研究本部では、タンパク質科学研究部と創薬化学研究部の2部署がNMR装置を保有し、創薬研究に活用しています。

タンパク質科学研究部には複数名のNMR研究員が所属し、主に生体高分子の構造・相互作用解析を担当しています。装置構成において特筆すべきは、国内製薬企業唯一の800 MHz高磁場NMR装置を保有していることです。これに加えて600 MHz NMR装置も備え、両装置にはサンプルチェンジャーを搭載し、効率的な測定環境を整えています(図1)。これらの装置は、安定同位体標識タンパク質を用いた高度な構造解析や、創薬



図1 中外製薬タンパク質科学研究部保有のNMR装置

こうした創薬プロジェクトに付随した業務に加えて、新たな研究領域への技術開発も進めています。近年注目されている天然変性タンパク質／領域 (IDP/IDR) や核酸などの新規創薬標的に対して、従来の構造解析手法では捉えにくい動的な情報を得るための有力な手段としてNMRの技術開発を進めています。また、デジタル技術を活用したNMR解析の効率化、AlphaFoldなど構造予測技術とのデータ統合、哺乳類無細胞発現系による新規標識法の開発など、次世代創薬研究を見据えた先進的技術開発も推進しています。これらの取り組みを通じて、従来アプローチが難しかった創薬標的への挑戦を続けています。

今後も技術革新と機能間連携をさらに推進し、NMRの特性を最大限に活かした創薬アプローチの発展に取り組んでいきたいと考えています。

5. おわりに

クライオ電子顕微鏡やAI技術の急速な発展により、生体系NMRの活用場面も変化してきていますが、タンパク質の運動性や柔軟性の高い生体分子の解析においては、NMRの強みが発揮されています。2023年に稼働を開始した中外LSP横浜の最先端設備と革新的な研究環境を活用し、AI技術などを取り入れたデータ解析にも取り組み、次世代のNMR解析を実現したいと考えています。

中外製薬の「患者中心」の理念のもと、生体系NMRの技術を活かして革新的な医薬品の創出に貢献していきます。また、日本核磁気共鳴学会の皆様との交流を通じて最新の技術や知見を取り入れながら、日本のNMR研究および創薬研究の発展に寄与できれば幸いです。



岩川 直都 (いわかわ・なおと)

2018～2021年 日本学術振興会特別研究員 (DC1: 京都大学)

2021年 京都大学大学院工学研究科分子工学専攻 博士課程修了 (白川昌宏研究室)

2021年～現在 中外製薬株式会社 (研究員)

第25回若手NMR研究会開催報告

徳島大学 先端酵素学研究所 分子生命科学分野 (齋尾研究室)

熊代 宗弘

kumashiro@tokushima-u.ac.jp

1. はじめに

昨年度の第24回若手NMR研究会に引き続き、第25回若手NMR研究会を、2025年9月8日(月)～10日(水)に兵庫県淡路市グランドニッコー淡路・淡路夢舞台国際会議場にて開催しました。天候にも恵まれ、輝く海と豊かな自然が広がる美しい環境のもと、大きな問題もなく無事開催することができました。

若手NMR研究会は、NMRに関心を持つ若手研究者や学生を対象に、NMRの基礎から応用にわたる体系的な学びの場と、最先端の研究の講義やポスター・口頭発表を通じた研究交流の場を提供する研究会として発展してきました。25回目となる今回は、その「NMRの玄関口」としての役割を維持しつつ、従来中心的であった生体系のNMRに加え、材料化学系のNMRや電気工学(NMR装置開発)など、より広い分野へと交流の輪を広げることを目指して企画・運営してきました。

本記事では、開催概要や講義内容、各種企画、参加後アンケートの結果を取りまとめて報告いたします。本研究会の詳細や来年度の開催情報に関しましては、公式HPや公式X等で随時発信しておりますので、併せてご覧いただけますと幸いです(図1)。

HP：<https://sites.google.com/view/wakatenmr2025/>

X：<https://x.com/wakatenmr>



図1 第25回若手NMR研究会の公式HPと公式Xアカウント

2. 開催概要・開催目標

第25回若手NMR研究会の実行委員は以下の4名で構成されました。

- ・北村 奎時(立命館大学 薬学研究科 代表)
- ・熊代 宗弘(徳島大学 先端酵素学研究所)
- ・田村 真生(千葉大学 国際高等研究基幹)
- ・李 勇進(京都大学 農学研究科)

昨年度の実行委員であった櫻井先生(近畿大学)、松田さん(東京科学大学)、宗先生(京都大学)、松永さん(東京科学大学)からアドバイスをいただきながら、助成金・協賛金の獲得、共催・後援学会の調整、HP・Xでの広報活動、予算管理など、研究会開催に必要な諸準備を1年通して進めて参りました。その結果、企業研究者、大学教員・ポスドク、大学院生・学部生、アカデミアの技術スタッフを含む計34名の若手研究者にご参加いただき、大変有意義な会となりました(写真1)。

近年、固体NMRやDNP(動的核偏極)などの発展が目覚ましく、これまで若手NMR研究会で中心的であった生体系の溶液NMRとはやや距離のあった分野でも、NMRの活用例が着実に増加しつつあります。そこで、第25回目の開催にあたり、以下2点の目標を掲げました。

(1) 基礎から応用まで学べる体系的な学びの場の提供

NMRの基礎原理を深く学べるだけでなく、実際の測定方法やトラブルシューティング、応用事例に至るまでの学びを提供できるプログラム構成にしました。NMR経験者のみならず、NMRを専門としない若手研究者にとっても、NMRへの理解を深める有意義な機会となるよう工夫しました。

(2) 分野横断的なNMRコミュニティの形成

材料化学、食品科学、電気工学などの分野でNMRを活用されている先生方に招待講演をお願いし、生体系溶液NMRの分野内にとどまらない



写真1 淡路夢舞台国際会議場の屋上で撮影した集合写真

有機的な交流を促す場となることを目指しました。また、ポスター発表・懇親会・ナイトセッションなどを通じて、分野や所属の垣根を越えた交流機会を設け、NMRを活用した科学技術の発展に貢献するようなコミュニティ基盤の形成を図りました。

3. 講義内容

本年度は、基礎から最先端研究、装置開発、応用分野まで幅広く網羅する6名の講師による講演が行われました。講義の要旨を簡潔に紹介します。

(1) 外山 侑樹 先生 (東京大学) :

基礎講座「Step-by-stepで理解するNMRの基礎」

NMRの原理理解に必須となるベクトルモデルや量子力学的記述、直積演算子などを、1パルス実験やスピンエコー実験を題材として段階的に整理してご解説いただきました。プロッホ方程式に基づく古典的な描像と、量子力学的なスピンの取

り扱いがどのようにつながるかを丁寧に示してください、初学者だけでなく、あらためて基礎を見直したい参加者にとっても大変有益な講義となりました(写真2)。

(2) 久米田 博之 先生 (北海道大学) :

基礎講座「タンパク質のNMR測定・構造解析」

タンパク3000プロジェクト以降に蓄積されてきたタンパク質NMRのノウハウを背景に、測定セットアップから主鎖帰属、構造計算に至る一連の流れについて、実践的な観点からご講義いただきました。NUS測定による測定時間短縮や、CYANA・NMRtistによる自動構造解析法とその限界、さらに自動帰属結果の検証の重要性など、現場で役立つ知見が具体的な経験に基づいて紹介されました。

(3) 楊井 伸浩 先生 (東京大学) :

「超核偏極を材料化学する」

感度の低さが課題であるNMRを高感度化する手法として、triplet-DNPを中心とした超核偏極技術の開発とその材料化学的展開についてご講演いただきました。表面積の大きなナノ材料や水溶性偏極源の開発、生体分子への効率的な偏極移行、偏極源の配向制御など、材料設計の工夫によってDNPの適用範囲を広げていく取り組みが紹介され、固体・溶液双方の分野に刺激を与える内容となりました。



写真2 外山先生の講義の様子

(4) 犬飼 宗弘 先生 (徳島大学) :

「結晶の固体NMR」

結晶性固体の構造・ダイナミクス解析において、X線回折では難しい固体NMRだからこそできることについて、金属有機構造体 (MOF) を中心とした研究例を交えてご紹介いただきました。プロトン伝導機構や気体吸着状態の解析、triplet DNPとの組み合わせによる分子プローブへの偏極など、結晶工学と固体NMR・DNPを融合した機能性材料設計の可能性が示されました。

(5) 小椋 賢治 先生 (石川県立大学) :

「NMRによる食品の分析」

食品中のナトリウム定量への ^{23}Na NMRの応用や、日本酒の原料・産地鑑定への水素安定同位体比 (D/H) 分析など、食品科学分野におけるNMR利用の具体例をご紹介いただきました。短時間での定量測定や、エタノール分子中の部位ごとのD/H比から原料や仕込み水の情報を読み解く試みは、NMRが食品の品質管理や真正性評価に対して科学的根拠を与えうることを示しており、参加者に新鮮な印象を与えました。

(6) 柳澤 吉紀 先生 (理研・JEOL) :

「NMR装置について：小型・高磁場の次世代マグネット開発の観点から」

NMR装置の中心である超電導マグネットの内部構造や、次世代小型・高磁場マグネットの開発動向について、メーカーおよび研究機関の視点からわかりやすくご講演いただきました。超電導線材や極低温容器の設計、液体ヘリウム低減などの技術的課題が紹介され、ユーザーが日頃意識しにくいハードウェア側の工夫を知る貴重な機会となりました。

4. その他企画内容

講演以外にも、多様な企画を通じて参加者間の交流や情報交換を促しました。

(1) 研究室紹介

毎年恒例の企画として、11研究室より特色ある研究内容や研究室文化をご紹介いただきました。なかでも楊井研究室の紹介では、AI技術を駆使した楊井先生が歌って踊る動画が披露され、会場はおおいに盛り上がりました。

(2) 温泉「松帆の郷」

会場からバスで15分の位置にある温泉「松帆の郷」へ赴き、明石海峡大橋の夜景を眺めながら湯につかり、寛いだ雰囲気の中で談話を楽しむ機会を設けました。

(3) ポスター発表 (6件)

今年度は試みとして、ポスドク以上の研究者による審査のもと、最優秀発表賞・奨励賞の学生発表賞を設けました。研究内容はいずれも水準が高く、分野横断的な視点での活発な議論が行われました (写真3)。

(4) 久米田 博之 先生 (北海道大学) :

Hands-on seminar「実践、Sparkyでの手動連鎖帰属」

希望者向けに、Sparkyを用いた手動連鎖帰属の実習を行いました。タンパク質の溶液NMRによる構造解析の第一歩を学ぶ貴重な場となりました。

(5) 企業講演 (2件)

- ・ジャスコインタナショナル株式会社
杉原 寛之 様
- ・ブルーカージャパン株式会社
佐藤 一 様

卓上NMRや企業でのNMR活用事例、1 GHz超の最先端NMR装置の紹介など、産業界の視点からNMRの最新動向をご講演いただきました。

(6) 懇親会・ナイトセッション

懇親会とその後のナイトセッションを通じて、通常の学会では難しい研究室間での深い議論が交わされました。

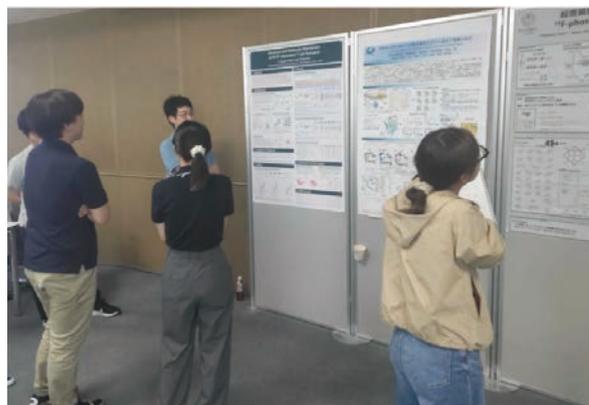


写真3 ポスター発表の様子

第25回
若手NMR研究会 **限定グッズ販売**

Nuclear Magnetic Resonance

NMRポップシャツ
3000円
サイズ：S/M/L/XL

Lockポロシャツ
3000円
サイズ：S/M/L/XL

オリジナルイラストNMR
スウェット/パーカー
5000円
サイズ：S/M/L/XL
カラー：ホワイト/ブラック

Spooler
Spooler
99
3000円
サイズ：S/M/L/XL
(※番号は指定していただけます)

会場内にあるサンプル以外は全て郵送になります。その場合ご到着まで最大一週間ほどお時間をいただく可能性があります。何卒よろしくお願ひします。

図2 若手NMR研究会限定グッズ

(7) 若手NMR研究会限定グッズ

(NMRをモチーフとしたTシャツ)の販売

新企画として若手NMR研究会オリジナルTシャツを製作・頒布し、発表賞の副賞としても活用しました(図2)。

5. 開催後アンケート結果

開催後に実施したアンケートでは、回答者の約90%が本研究会に「満足」や「役に立った」と回答されました。特に、外山先生の基礎講座のわかりやすさや、久米田先生の実践講座、ナイトセッションでの交流が高く評価されました。普段タンパク質の溶液NMRを扱わない参加者からは、新鮮で有意義だったというご意見もいただいま

す。

今後取り上げてほしい内容としては、NMRを用いたダイナミクス解析やDNP関連の最新技術、MRIに関する話題などが挙げられていました。また、卓上NMRにDNPを組み合わせた解析は現場で実践することが比較的容易であることから、若手NMR研究会での実践講座として面白いのではないかというご提案も頂きました。

6. 終わりに

第25回若手NMR研究会は、多くの方々のご協力のおかげで盛会のうちに終えることができました。講師を務めていただいた先生方、ポスター発表頂いた学生の皆様、参加者の皆様、ご協賛いた

いただきました企業、共催・後援学会、そして会場とさせていただいた淡路夢舞台国際会議場会議支援課のソン様と岩崎様に、この場をお借りして心よりお礼申し上げます。

本年度は、分野横断的な企画を取り入れることで、若手NMR研究会の新たな方向性を示すことができたと考えています。NMRを基盤とする科学技術が今後さらに発展するうえで、溶液・固体、生体系・材料系など分野の垣根を超えた交流ができる本研究会が、その一助となれば幸いです。

若手NMR研究会は元来、学生主体で運営されていた歴史があり、今年度の実行委員の間からも「今後の若手会の運営は学生主体へ戻すべき」という提案がなされていました。本年度はその移

行期としての役割も担うこととなり、来年度の第26回若手NMR研究会は、学生を中心とする新体制で開催される予定です。来年度の第26回若手NMR研究会の実行委員は、以下の通りです。

- ・原 光太郎 (東京大学 薬学系研究科)
- ・加藤 利樹 (京都大学 理学研究科)
- ・前川 瀬里菜 (高知大学 総合人間自然科学研究科)
- ・生亀 由起彦 (徳島大学 創成科学研究科)

ご参加やご協賛等のかたちで引き続き本研究会にご関心いただけますと幸いです。最後に、本研究会で特にご好評であった外山先生の講義を動画として近日中にYouTube配信することを企画しております。ご期待ください。

Pacifichem2025 参加報告書

横浜国立大学大学院 理工学府 化学・生命系理工学専攻 修士2年

金澤 匠

kanazawa-takumi-pk@ynu.jp

この度、日本核磁気共鳴学会の2025年度第2回若手研究者渡航奨励金のご支援をいただき、2025年12月15日～20日に開催されたThe International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2025 (Pacifichem2025) (Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii ; USA) に参加し、研究発表をいたしました。本奨励金により、国際学会に参加させていただいたことを、日本核磁気共鳴学会会長 木川隆則先生、若手研究者渡航奨励金選考委員長 池上貴久先生をはじめ、故京極好正先生、故阿久津政明様、ならびにご家族と関係者の皆様に心より感謝申し上げます。

本学会の開催地であるホノルルは、日中の気温が25℃前後であり、開催された12月は雨季ということで、会期中は毎日雨に見舞われたものの、非常に温暖で過ごしやすい環境でした。アラモアナの高層ホテルが数多く立ち並ぶ都会的な雰囲気と、ワイキキのリゾート感溢れる非日常的な環境下で7日間を過ごしました。本学会は5年ごとに開催される世界最大級の化学分野の国際会議であり、今回は2015年開催以来10年振りの対面開催でした。会期中は延べ1万人以上の参加者が世界各国から参集しており、ホノルルの至るところで参加者に遭遇する非常に賑やかな街並みでした。

私は東京科学大 石井佳誉先生、横浜国大の川村出先生、Florida State UniversityのAyyalusamy

Ramamoorthy先生らがオーガナイザーを務める“Advances in Biological Solid-State NMR”のセッションにおいて“Comparative solid-state NMR study of wild-type schizorhodopsin and its inactive mutant”という題目で口頭発表を行いました。近年新たに発見された微生物由来の光駆動型細胞内向きプロトン輸送膜タンパク質シズロドプシンの未だ不明である機能発現機構の解明に貢献すべく、研究を進めています。また、野生型と不活性点変異体の多次元固体NMRスペクトルの比較解析を行い得られた、構造変化部位の同定結果と同部位の機能的役割についても報告しました。発表では、海外の数多くの研究者の方々に参加していただき、試料調製条件、固体NMRスペクトルや構造変化部位の考察などについての質問・コメントをいただくことができました。さらに、このたび大変光栄なことに、ISMARプレゼンツのStudent Awardを受賞することができ、日頃ご指導いただいている先生方や共同研究者の皆様にも心より感謝申し上げます。

そして、世界各国から参集した核磁気共鳴研究者による口頭発表は大変興味深く、多くの学びがありました。なかでも、North Carolina State UniversityのProf. Alexandar NevzorovによるLipodisc中において膜タンパク質を構造解析した研究発表に感銘を受けました。多様な測定手法を駆使しながら構



Fig. 1 ホノルルの街並み (Waikiki beach)



Fig. 2 発表会場にて

造解析を行ったデータを、生き生きと発表されている姿が非常に魅力的でした。また、University of GuelphのProf. Vladimir Ladizhanskyによる、膜タンパク質hAQP1の構造解析や特定脂質が結合した光駆動型膜タンパク質ASRの固体NMR評価の報告も印象に残っています。



Fig. 3 口頭発表にて

初めて国外開催の国際学会に参加し、最先端の生体系固体NMR技術に触れるとともに、研究者の方々に向けて自身の研究成果を発表できたことは、貴重な経験になりました。世界中の研究者と交流・議論する中で受けた刺激を今後の研究活動に生かし、精進したいと思います。

Pacificchem2025 参加報告書

東京大学大学院 新領域創成科学研究科 特任助教

安藤 翔太

s-ando@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

この度、日本核磁気共鳴学会の2025年度第2回若手研究者渡航奨励金のご支援をいただき、2025年12月15日～21日に米国ハワイ州ホノルルで開催されたThe 2025 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacificchem 2025)に参加しました。本奨励金により、公開学会に参加させていただきましたことを、故京極好正先生、故阿久津政明様ならびにご家族の皆様、株式会社LAシステムズ、日本核磁気共鳴学会会長 木川隆則先生、若手研究者渡航奨励金選考委員長 池上貴久先生をはじめとする関係者の皆様により御礼申し上げます。

本大会の開催地であるホノルルは雨季のため朝夕、夕方にスコールが降り、湿度が高いものの日中の気温は25度前後で過ごしやすい気候でした。学会会場であるハワイコンベンションセンターの周辺は高層ビルが並ぶ都会的な雰囲気があり、十数分歩くと海岸からダイヤモンドヘッドを眺めるハワイならではの風光明媚な環境で学会が開催されました。12月14日にJALホノルルマラソンが

開催されていたこともあり、日本人観光客も多く街中は賑わいに溢れていました。

本年は参加者約14,000人以上で国際学会でも最大規模で、オープニングセレモニーはハワイの伝統的な音楽とダンスで彩られ、華やかなスタートを切りました。

私は「Environmentally friendly sustainable thermoset vitrimer-containing polyrotaxane for circular economy」というタイトルで発表を行いました。ビトリマーという常結合性動的共有結合を有する熱硬化性材料にポリロタキサンというトポロジカル超分子化合物を導入したトポロジカル2元動的ネットワーク材料のサステナブル機能について研究成果を紹介しました。様々な研究者からポジティブなコメントをいただき、今後の新たな研究方針を模索するきっかけとなりました。世界各国から集結した研究者の先駆的な研究発表は大変興味深く、大きな刺激を受けました。今回の海外渡航での学びを活かし、精進してまいります。



オープニングセレモニーの様子

Pacificchem2025 参加報告書

東京大学大学院 薬学系研究科 博士1年

山本 泰雅

zeraora-blue@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

この度、日本核磁気共鳴学会2025年度若手研究者渡航奨励金のご支援のもと、2025年12月15日から20日にかけて米国ハワイ州ホノルルにて開催された The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2025 (Pacificchem 2025) に参加しました。本奨励金により国際学会に参加する機会を賜りましたことに、心より御礼申し上げます。

Pacificchemは、環太平洋地域を中心に世界各国から化学分野の研究者が集う国際会議であり、基礎化学から応用化学、生命科学、材料科学に至るまで、極めて幅広い分野の研究結果が発表される大規模学会です。会期中は多数のシンポジウムが並行して開催され、最先端の研究動向を体系的に把握できる貴重な場となっていました。

本学会において、私は弊研究室の竹内恒教授らがオーガナイザーを務める“Biomolecular Structure and Dynamics: Recent Advances in NMR”セッションにおいて、会場設営およびプログラム進行を担当しました (Fig.1)。運営を通じて、各講演を演者の近くで聴講する機会に恵まれ、さまざまな発表者の講演を間近で体験できたことは大変貴重でした。Pittsburgh大学のAngela Gronenborn先生、伊島理枝子先生、中国科学院の

Conggang Li先生などによる ^{19}F NMRを用いた生体分子解析の展開、Peking大学のChun Tang先生による solvent PREに利用する錯イオンプロープの分子設計など、これまで十分に接しなかった研究分野に触れることができ、自身の研究視野を大きく広げる契機となりました。

また、自身の研究成果については、“NMR Analysis of the Cholesterol-Mediated Regulation of CD19-CD81 Complex in Lipid Bilayers”という題目でポスター発表を行いました。本研究は、B細胞共受容体であるCD19とCD81の複合体が、膜中のコレステロール濃度変化に応じて構造および相互作用様式を変化させる可能性を、溶液NMRを用いて検証したものです。液体NMR分野の研究者のみならず、横浜国立大学の内藤晶先生をはじめとする固体NMRを専門とする国内外の研究者からもコメントや助言をいただくことができ、今後の研究方針を検討するうえで極めて有益な示唆を得ることができました。

ポスター発表会場は非常に広く、数多くの発表が行われていました (Fig.2)。有機化学分野の発表が多く、NMR分野と密接に関連する研究として、Photo-CIDNP法によるシグナル高感度化を目的とした新規試薬の開発などのポスター発表を

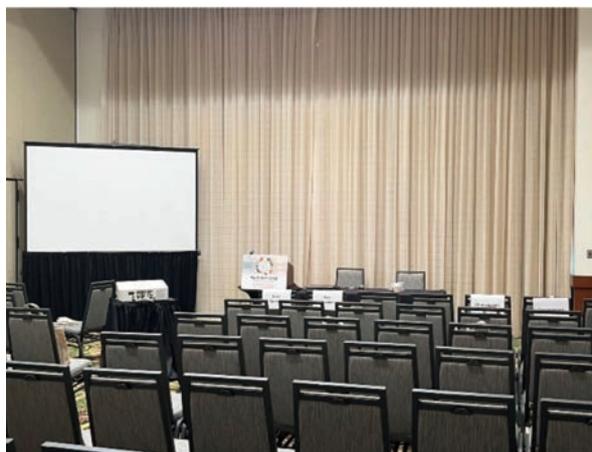


Fig. 1 Oral発表会場の様子



Fig. 2 Poster発表会場の様子

聴講しました。これらの発表は、基礎化学と構造生物学が密接に連携して発展している現状を実感する機会となりました。

本学会は、私にとって初めて国外で開催される大規模国際学会への参加であり、最先端のNMR研究動向に直接触れるとともに、世界各国の研究者に向けて自身の研究成果を発信する初めての経験となりました。多様なバックグラウンドをもつ

研究者との議論を通じて得られた知見や刺激は、今後の研究活動の方向性を再考するうえで大きな財産となりました。今回得られた経験を糧とし、より高いレベルの研究成果創出を目指して、今後一層研究活動に励んでまいります。

改めまして、本奨励金によるご支援に深く感謝申し上げます。

「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。

2025年度選考の経緯

今年度は7名の応募があり、理事会で推挙された5名の審査員と各賞担当理事からなる選考委員会を組織いたしました。審査は、審査員が応募書類をもとに例年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（利益相反がある場合はその応募者には投票せず）。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。各選考員にはコメントも付していただきました。

各審査員の審査結果を得て、2025年7月17日、審査員全員および石井佳誉（各賞担当理事、選考委員会委員長）、武田和行（各賞担当理事、オブザーバ）、木川隆則（学会長、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をしました。その結果、選考委員会は2025年度（第6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2025年10月24日ニュースレターにて本会員全員に配信されました。おめでとうございます。

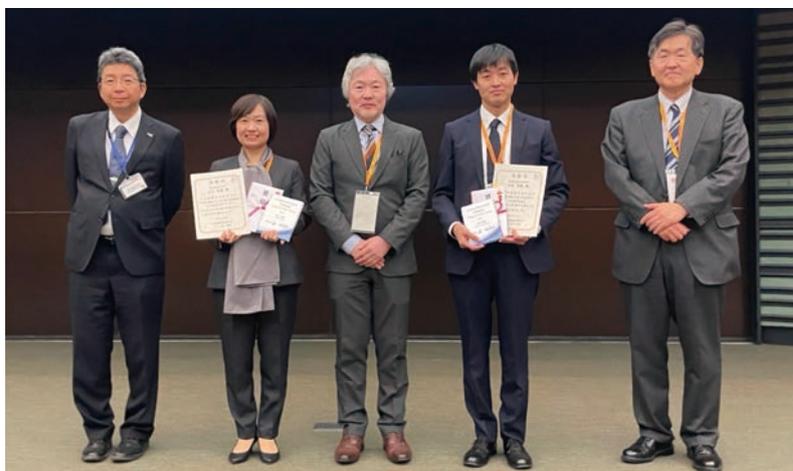
2025年度進歩賞受賞者（順不同）

永島 裕樹氏（産業技術総合研究所）

矢木 真穂氏（名古屋市立大学）

上記の受賞者には第64回NMR討論会（沖縄）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。



左から末松 浩人氏*¹、矢木 真穂氏、木川 隆則学会長、永島 裕樹氏、八島 秀仁氏*²

*¹日本電子株式会社 NM事業ユニット ユニット長

*²ブルカージャパン株式会社 バイオスピニング事業部 事業部長

2025年度学会顕彰：若手ポスター賞

第64回NMR討論会(2025) 若手ポスター賞について

今年度の『若手ポスター賞』には、前年より大幅に多い28名の応募があり、最優秀若手ポスター賞として1名、優秀若手ポスター賞として2名、若手ポスター賞として7名を顕彰しました。これらポスター賞には、昭光サイエンス株式会社と大陽日酸株式会社、セティ社からのご厚志による副賞の授与も行いました。若手ポスター賞の趣旨や応募資格など、詳しくは第64回NMR討論会(2025)のホームページ「若手ポスター賞」(<https://nmr64.jp/young-poster-award/>)を御参照ください。

選考にあたっては、まず28名の応募者について、登録された研究領域や評価者の人数などを考慮し3つのグループに分け、グループごとの応募者と審査員の比がなるべく均等になるように配置しました。そのうえで、規定の選考方針に基づいて応募者の要旨・ポスター・発表の3項目を1演題につき4名の利益相反の無い評価者により、総合点を10点満点で採点しました。その際、各審査員が担当の応募者について、標準的得点を7点として採点していただき、審査員の総合点の平均値がグループごとで大きく開かなかったことを確認のうえ、各応募者の評価としました。

評価が最も高い1名を最優秀若手ポスター賞として選び、木川会長より賞状が授与され、副賞として賞金と記念のトロフィーが昭光サイエンス株式会社と大陽日酸株式会社より贈られました。ついで、優秀若手ポスター賞2名に賞状が授与され、副賞として昭光サイエンス株式会社と大陽日酸株式会社よりそれぞれに賞金と記念のトロフィーが贈られました。さらに、7名の若手ポスター賞受賞者を選び、賞状と副賞として昭光サイエンス株式会社、大陽日酸株式会社、およびセティ株式会社より賞金が贈られました。受賞者のお名前、所属、発表題目は以下の通りになります。

■最優秀若手ポスター賞

P015Y 榎本 翔太 慶應義塾大学大学院 薬学研究科

14-3-3 ζ interacts with DNA-binding domain of FOXO3a and competitively dissociates DNA by dual-motif tethering

■優秀若手ポスター賞

P011Y 小島 行人 慶應義塾大学大学院 薬学研究科

NMR化学シフト変化に基づく低親和性リガンドの結合様式推定手法の構築

■優秀若手ポスター賞

P043Y 太田 翼 京都大学大学院 理学研究科

過圧縮分子性液体の運動性—2万気圧で拡散NMR測定—

■若手ポスター賞7件

4位

P075Y 並木 智哉 東京理科大学 理学部第一部

ナノスケールにおける水クラスターの階層性とダイナミクス

同率5位4名

P021Y 李 勇進 京都大学大学院 農学研究科

断片解析と全長測定を組み合わせたCPEB3天然変性領域全長 [1-459] の主鎖化学シフト帰属および構造解析

P061Y 水島 美咲 福井大学大学院 工学研究科

固体NMRを用いた家蚕シルクフィブロイン中のバリン残基の構造解析

P071Y 安藤 翔太 東京大学 新領域創成科学研究科

高架橋環動エラストマーの革新的海水生分解性発現とFGMASプローブを用いた固体¹H-NMRによる生分解機構の推定

P103Y 瀧辺 小次郎 京都大学大学院 理学研究科

Ni-MOF-74による超高効率オルト・パラ水素変換：手のひらサイズ変換器によるPHIPの実現

9位

P007Y 安田 愛美 千葉大学 薬学部

区分標識法を活用したNMR解析によるFUS病原性変異体G156Eの線維形成促進機構の解明

10位

P017Y 堀川 皓央 東京都立大学大学院 理学研究科

Structural analysis of the rhizobial multi-domain protein FixJ by heteronuclear multidimensional NMR spectroscopy

各賞担当理事 石井 佳誉、武田 和行



左から種市*¹、村上*²、榎本、小島、太田、並木、李、水島、瀧辺、安藤、安田、堀川、木川、三原*³

*¹種市大喜 セティ株式会社

*²村上祐児 太陽日酸株式会社 イノベーションユニットSI事業部 SI事業部長

*³三原博彰 昭光サイエンス株式会社 西日本営業所 所長

日本核磁気共鳴学会の決定事項

2025年度 通常総会

日時：2025年11月26日(水) 11:10～12:10
会場：沖縄科学技術大学院大学
カンファレンスセンター 講堂
出席：113名 委任状：78名 合計191名

1. 開会の辞
2. 会長挨拶
3. 第64回NMR討論会(2025)世話人挨拶
4. 事業報告
5. 2024年度収支決算の承認
6. 2025年度中間報告の承認
7. 一般会員年会費金額改訂の件
8. 2026年度収支予算案の承認
9. 2026年度役員(評議員(2026-2027))の選任
10. 第65回NMR討論会(2026)世話人挨拶
11. その他
12. 閉会の辞

会員数

会員種別	2023年 9月30日	2024年 9月30日	2025年 9月30日
正会員	381	394	388
学生会員	134	142	155
シニア会員	—	—	7
名誉会員	13	15	14
賛助会員	8	9	9
合計	536	560	573

* 定足数[一般会員385名(2025年9月30日現在)] / 5 = 77名

* 資料に基づき全て承認された。

役員名簿

会長

木川 隆則 理化学研究所 第12期会長
(R6-R7)

理事会長(*) 副会長(**)

浅野 敦志** 防衛大学校
池上 貴久 横浜市立大学
石井 佳誉 東京科学大学
大澤 匡範 慶應義塾大学
加藤 晃一 自然科学研究機構
木川 隆則* 理化学研究所
齋尾 智英 徳島大学
武田 和行 京都大学
野村 薫 サントリー生命科学財団
松木 陽 大阪大学蛋白質研究所
宮ノ入洋平 大阪大学蛋白質研究所

会計監査(R6-R7)

北原 亮 立命館大学
竹内 恒 東京大学

評議員(R7-R8)

浅野 敦志 防衛大学校
芦田 淳 日本電子株式会社
犬飼 宗弘 徳島大学
大澤 匡範 慶應義塾大学
奥下 慶子 日本製鉄株式会社
川村 出 横浜国立大学
齋尾 智英 徳島大学
武田 和行 京都大学
西田 紀貴 千葉大学
西山 裕介 日本電子株式会社
福士 江里 北海道大学
藤原 敏道 大阪大学蛋白質研究所
松木 陽 大阪大学蛋白質研究所
三島 正規 東京薬科大学
八木 宏昌 旭化成ファーマ株式会社
谷中 冴子 東京科学大学
山内 一夫 沖縄科学技術大学院大学

評議員(R6-R7)

池上 貴久 横浜市立大学
池谷 鉄兵 東京都立大学
石井 佳誉 東京科学大学
梶 弘典 京都大学

片平 正人	京都大学
加藤 晃一	自然科学研究機構
児嶋長次郎	横浜国立大学
佐藤 一	ブルカージャパン株式会社
楯 真一	広島大学
鳥澤 拓也	中外製薬株式会社
野田 泰斗	京都大学
野村 薫	サントリー生命科学財団
宮ノ入洋平	大阪大学蛋白質研究所
矢澤 宏次	日本電子株式会社
山田 和彦	高知大学

日本核磁気共鳴学会機関誌投稿規程

(2022年10月22日改訂)

日本核磁気共鳴学会機関誌 (NMR学会誌) は、主にNMRに関する情報を公開し、会員の皆様の学術交流を目的とした会員サービスを提供します。NMR学会誌では、学会依頼記事、学術記事、NMR学会報告を掲載します。会員の皆様からは、学術記事、および、NMR学会報告の投稿を歓迎します。投稿原稿の採択の可否は、編集委員の査読結果をもとに編集委員会で決定します。掲載された著作物の著作権は、本学会に帰属するものとします。

原稿は下に示す原稿作成要領を参考に作成し、NMR学会ホームページのトップページ (<http://www.nmrj.jp/index.php>) にあるNMR学会誌ページの原稿投稿フォームから投稿してください。図や表を他の文献から引用して使用する場合には、投稿前に著作権所有者から使用許可を得た上で、原稿投稿フォームから原稿と共に使用許可書 (PDF) を提出してください。

原稿の分類

●学会依頼記事

(会長メッセージ、巻頭エッセイ、等)

・会長メッセージ

NMR学会会長からのメッセージ。2,000字以内、1ページ。

・巻頭エッセイ

主にNMR討論会特別講演者からの寄稿。NMR学会、NMR討論会との関わりなどについてのエッセイ。2,000～4,000字、1～2ページ (図表を含む)。

●学術記事 (研究論文、総説論文、NMR講座、等)

・研究論文：研究報告

会員が単著あるいは共著 (非会員でも可) で投稿するオリジナル研究報告。6,000～12,000字、3～6ページ (図、表を含む)。

・総説論文：解説

著者の研究成果および関連分野の現状の分かりやすい解説。8,000～16,000字、4～8ページ (図、表を含む)。

・総説論文：トピックス

数年以内に発展した新しいNMRの展開につ

いてのミニレビュー。4,000～8,000字、2～4ページ (図、表を含む)。

・総説論文：技術レポート

NMRの装置や測定方法の開発に関するレポート。4,000～8,000字、2～4ページ (図、表を含む)。

・総説論文：NMR便利帳

NMR実験に便利な装置 (ハードウェア) や実験方法・解析 (ソフトウェア) の工夫、安全衛生 (磁場、高圧、高電圧、酸欠、毒物劇物) などに関する分かりやすい解説。4,000～6,000字、2～3ページ (図、表を含む)。

・NMR講座：NMR基礎講座

主にNMR討論会のチュートリアル講演者などによるNMRの基礎の解説。4,000～10,000字、2～4ページ (図、表を含む)。

●NMR学会報告 (学会顕彰、会員便り、等)

・会員便り：海外学会参加報告

主に、若手研究者渡航費助成金受領者による寄稿。NMRニュースレターとして公開される報告書でも可。会員からの寄稿も歓迎します。2,000～4,000字、1～2ページ (図、表を含む)。

・会員便り：NMR研究室便り

主にNMRを使って研究を行っている大学や公的機関、企業の開発室が、研究テーマ、構成員、特徴など、研究室の内容を紹介する。2,000～6,000字、1～3ページ (図、表を含む)。

・会員便り：若手NMR研究会便り

若手NMR研究会の主催者による研究会報告、参加者の報告、講演者の要旨の寄稿。4,000～8,000字、2～4ページ (図、表を含む)。

原稿作成要領

・和文は明朝体、英文はTimesのフォントを用い、表題は14ポイント、本文は12ポイントで、docまたはdocxファイルで作成してください。

・原稿は、表題、執筆者氏名・所属、本文、引用文献、表、図の順番にまとめ、1つのファイルとして提出してください。

・巻頭エッセイ、解説、トピックス、研究報告、

NMR基礎講座、技術レポート、NMR便利帳の執筆者は、略歴と顔写真のファイルを提出してください。

- ・ 図は、TIF, JPG, PDFファイルで 600 dpi 以上の解像度で作成してください。
- ・ 図、表には、番号を付すと共に、それぞれの説明を記入してください。
- ・ 引用文献は、次を参考にして書式を統一してください。

[1] Javkhlantugs, N., Naito, A. & Ueda, K. Molecular dynamics simulation of bonbolitin II in the dipalmitoylphosphatidylcholine membrane bilayer. *Biophys. J.* **101**, 1212-1220 (2011).

[2] 内藤 晶, 光センサータンパク質の情報伝達機能. *化学* **66**, 68-69 (2011).

[3] Saito, H., Ando, I. & Naito, A. *Solid State NMR Spectroscopy for Biopolymers. Principles and Applications*. 1-464 (Springer, 2006).

本文中には引用箇所の右肩に角括弧を付けた数字で示して下さい。

2012年10月22日制定

2014年9月30日改訂

2021年8月5日改訂

2022年10月21日改訂

賛助会員名簿

味の素株式会社

株式会社シゲミ

ジャパン スーパーコンダクタ テクノロジー 株式会社

昭光サイエンス株式会社

太陽日酸株式会社

日本電子株式会社

ブルカージャパン株式会社

Magritek

株式会社 Resorna

令和8年2月現在の本学会賛助会員は、上記の通りです。
本学会の事業への御賛助に対しまして、厚く御礼申し上げます。

日本核磁気共鳴学会機関誌編集委員会委員名簿 (2024-2025年度)

委員長	西山 裕介	JEOL
副委員長	相沢 智康	北海道大学
	松木 陽	大阪大学
委員	池上 貴久	横浜市立大学
	池谷 鉄兵	東京都立大学
	川村 出	横浜国立大学
	菊地 淳	理化学研究所
	児嶋長次郎	横浜国立大学
	齋尾 智英	徳島大学
	佐藤 一	ブルカー・バイオスピン
	栃尾 尚哉	理化学研究所
	鳥澤 拓也	中外製薬
	野村 薫	サントリー生命科学財団
	橋本 康博	旭化成
	福士 江里	北海道大学
	三島 正規	東京薬科大学
村上 美和	京都大学	

NMR

*Bulletin of the Nuclear Magnetic
Resonance Society of Japan*

Vol.15 No.2

2026年2月28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