

西村 勝之 (准教授) (2006年4月1日着任)

横田 光代 (事務支援員)

A-1) 専門領域：固体核磁気共鳴，構造生命科学

A-2) 研究課題：

- a) 安定同位体非標識脂質分子の¹³C信号帰属に資する新規固体NMR測定法の開発
- b) 固体NMRを用いたプリオンフラグメントと脂質膜の特異的相互作用の解析
- c) クマムシ由来高耐熱性タンパク質の固体NMRを用いた構造解析
- d) 固体NMRによる糖鎖脂質含有脂質二重膜上で誘起されるアミロイドβの会合状態の解析
- e) 固体NMRによる有機分子材料の解析
- f) 独自固体NMRプローブのための要素技術の開発

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 脂質二重膜の構成脂質分子に関して天然存在比安定同位体¹³Cを観測して，高い分子運動性を示す液晶相における脂質分子の¹³C信号帰属に資する新規固体NMR測定法の開発を試みた。脂質分子と同様な運動性を有する有機低分子を参照試料として，同測定法を適用し，有効性の確認まで完了している。さらに信号重複が激しい部位に関して正確な信号帰属を達成するため，上記の新規測定法の拡張版を検討中である。
- b) ヒトプリオン病は，生体中に存在する正常型のプリオンタンパク質(PrP^C)の高次構造がβシートリッチな感染型(PrP^{Sc})に変換され，不溶性アミロイド線維が形成され発症すると考えられている。本研究では同タンパク質の構造転移機構の解明を最終目的としている。全長ヒトプリオンと同様な脂質結合活性を有し，細胞毒性が報告されている106から126残基に相当するPrP(106-126)が，PrPの構造転移が示唆されている細胞膜表面のカベオラの主要脂質成分を単純化したGM1含有リポソームに結合したプロテオリポソームに関して，1D¹³C固体NMRによる解析を行った。現在測定結果の解析，検討を行っている。本研究は国立感染症研究所の谷生道一博士との共同研究である。
- c) クマムシは特徴的な乾眠メカニズムを有し，乾眠状態で数十年生存することが可能である。これには，クマムシ固有のタンパク質が関与していると考えられているが，その詳細は不明である。クマムシの中で構成タンパク質の内，良く研究されている熱耐性が非常に高いsecretory abundant heat soluble (SAHS)タンパク質の乾燥状態での分子構造を固体NMRを用いて解析することを試みた。本研究は，名古屋市立大学佐藤匡史准教授，矢木宏和准教授グループと分子研加藤晃一教授のグループとの共同研究である。改良型試料調製法により調製した特定残基のみ¹³C全安定同位体標識したSAHSタンパク質試料，さらに複数の変異体型同タンパク質試料に2次元¹³C同種核間相関固体NMR測定法などを適用し，信号帰属を完了した。さらに同タンパク質の二次構造変化の検証を完了した。
- d) これまでアルツハイマー型認知症の発症への関与が示唆されるアミロイドβ(Aβ)の糖鎖脂質GM1含有脂質二重膜上での固体NMRを用いた構造解析を行ってきた。同研究の学術論文の投稿において，同タンパク質と脂質膜の直接的な相互作用の固体NMRによる解析結果の要求が生じたため，paramagnetic relaxation enhancement (PRE)を用いた方法で，以前行った手法とは異なるアプローチでAβが脂質膜面に存在していることを実証する実験を行い，その立証に成功した。

- e) 分子科学研究所の瀬川泰知准教授のグループで独自に合成された有機分子の状態解析を固体 NMR を用いて行っている。¹H 核が少ないことから天然存在比同位体観測による構造同定は有効な手法が限られており、十分な情報が得られていない。現在、¹³C 核を中心に他核種の検討も行っている。
- f) 現在使用している Bruker 社製分光器, および周辺機器と完全互換性を有する独自の固体 NMR プロープの開発を行ってきた。本プロープでは、試料管回転モジュール, および回転検出用の光電圧変換モジュールの 2 部品のみ同社製部品を使用した。全ての部品を独自モジュールに置き換えるため、スピニングモジュール, および回転検出用の光電圧変換モジュールの開発を行っている。自作のスピニングモジュールは、メーカー純正の自動回転コントローラーを用いて同社市販品と同一の最高回転周波数を達成した。更に、自作のマニュアル回転コントローラーで独自の圧力変数を用いることにより市販品の最高回転周波数を超える周波数で安定的に回転可能であるところまで確認を完了した。しかし、著しい高速回転テストを行った際、クラッシュして一部部品が破損したため、市販品を超える高速域での回転安定性の向上, および更なる最高回転周波数の向上をめざして 2 種類の改良版の再設計しテストを行った。再度のクラッシュの後、独自に達成した回転周波数領域では、市販の試料管の材料であるジルコニアの材料強度が不足していることが判明した。このため、より高強度な材料を用いた試料管を作成しない限り、遠心力による試料管の破壊が生じることが判明した。現在、これまでと同様の完全互換版と独自仕様の 2 種類の異なる設計でスピニングモジュールの開発を進めている。

B-8) 大学等での講義, 客員

総合研究大学院大学物理科学研究科, 講義「機能生体分子科学」, 2023 年 1 月.

C) 研究活動の課題と展望

独自開発プロープの全ての部品を独自設計品に置き換えるためのモジュール開発も進んでおり、残り 2 つとなった。過去 2 年程、最難関のスピニングモジュールの開発を行ってきたが、遂に純正コントローラーを用いて市販品と同じ最高回転周波数を達成することができた。さらに市販品を超えた最高回転周波数を独自条件で達成できた。現状の設計で、同一試料管外径で世界最高速を達成している。しかし、独自に達成した高回転速度域では試料管の素材であるジルコニアの材料強度が不足していることが判明した。このため、より高い強度を持つ素材を用いて市販品と同一形状の試料管を作成する必要がある。更なる回転周波数の向上は可能であるが、元々市販品と完全互換のスピニングモジュールの開発を行ってきたため全て独自に作成するのであればより効率を追求したオリジナルの試料管, およびスピニングモジュールの開発を行う方が良く、開発を完全オリジナルと互換版の 2 つに分けて行う予定である。これまで何年間か、上述のような性質の異なる全ての作業を一人で行ってきたが、生産性に限界があり、特に新規試料の調製初期段階では多くの地道な作業が必要である為、試料調製を担う有能なスタッフを渴望しているが、良い人材確保が難しい状況である。