

## 西村 勝之(准教授)(2006年4月1日着任)

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) 中性脂質二重膜表面で誘起されるアミロイドβ会合状態の固体 NMR を用いた構造解析
- b) 固体 NMR<sup>13</sup>C 同種核間複数距離同時評価のための実験法および解析法の検討
- c) *Spirulina platensis* の高磁場固体 NMR による構造解析
- d) カーボンブラック充填ポリイソプレンゴムの超高磁場固体 NMR による構造解析
- e) 酸化劣化に伴うゴム構造変化の固体 NMR による解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) アミロイドβペプチド(Aβ)は、アルツハイマー病の原因分子と考えられおり、凝集して不溶性のアミロイド線維を形成する。近年、同ペプチドは、細胞膜上で線維化が促進されると考えられており、中性脂質からなる脂質二重膜表面に結合して誘起される Aβ<sub>40</sub> 会合状態の立体構造解析を、固体 NMR を用いて行ってきた。<sup>13</sup>C 安定同位体標識された同ペプチドを中性脂質 DMPC 膜に結合させた試料を用いて、マジック角試料回転(MAS)下で、<sup>13</sup>C 同種核間および<sup>13</sup>C-<sup>15</sup>N 異種核関連二次元 NMR を用いて、観測された全信号の連鎖帰属を行った。帰属信号の等方化学シフト値の解析から、各残基での二次構造を決定した。さらに、<sup>13</sup>C 同種核間磁気双極子相互作用に基づく同種核間関連 NMR 法を用いて、隣接分子間の関連信号を観測し、隣接分子間の相対配座の解析を行った。以上の解析から、Aβ<sub>40</sub> が、同脂質膜結合初期段階で、24 残基目から C 末端まで分子間で平行βシート構造を取って会合していることを解明し、その会合体構造の決定に成功した。
- b) 分子の立体構造、およびパッキングが既知の絹モデルペプチドを用いて、MAS 下でスピン拡散に基づく固体 NMR<sup>13</sup>C 同種核間関連 NMR 実験から、複数の原子間距離情報に基づいた構造評価法の検討を行った。一般的手法、および短時間で強い関連信号が得られる改良型手法の双方を用いて、スピン拡散時間を変化させた複数のスペクトルを測定した。前者の関連信号の強度変化の解析手法を後者の手法に適用し、既知の構造に基づく関連ピークの増加曲線と実験結果の比較検討を行った。暫定的な解析結果から、後者の改良型手法では、より再現性が高い関連ピーク増加曲線が得られることが判明した。
- c) 藻類の1種 *Spirulina platensis* は、生育温度および pH 変化の制御により、特異的な形状を取り、そのらせんピッチおよびサイズの制御が可能である。本研究では、固体 NMR を用いて、この *Spirulina* の形態変化に伴う外套膜の分子レベルでの構造や運動性の変化の解析を試みた。測定には、異なる培養条件下で生育した形態と株、薬品処理の異なる *Spirulina platensis* 個体をそのまま凍結乾燥して試料とし、920MHz NMR を用いて天然存在比同位体を観測し、高感度スペクトルを得た。測定対象が個体であり、様々な分子由来の複雑なスペクトルを与える。このため、主成分分析により、特徴的なスペクトル変化を検出し、*Spirulina* のらせん形状制御と相関が示唆されるスペクトル領域の抽出を試みた。一次解析から、各株での糖鎖構造の違いに関する明確な相関が得られた。
- d) 工業用すすの一種、高耐摩耗性カーボンブラック(CB)は、イソプレンゴム(IR)への添加によりゴム全体の強度を向上させる充填剤である。本研究では、同ゴム複合体中の CB と IR の界面、および CB から離れた IR の各構造ドメインにおいて、IR 由来の信号を観測し、同複合体中での CB 添加による IR の局所的な分子構造変化に関する知見を得ることを目的とした。920MHz 超高磁場 NMR を用いて高速 MAS 下で先鋭な<sup>1</sup>H NMR スペクトルを観測した。CB 充填 IR の過酸化物架橋後試料及び CB 未充填 IR の未架橋試料の T<sub>2</sub> 緩和時間測定では、特徴的な緩和現象の変化が観測されたため検討を行っている。
- e) 加硫ゴム製品は、長期間の使用による酸化により架橋密度が増加し、これに伴う硬化により性能低下を生じる。既存

研究では、イソプレンゴムでの硫黄架橋点構造に関する知見が得られているが、酸化劣化により形成される架橋点構造に関する分子論的な情報はなく、酸化劣化後の酸素含有量や物性変化量の量的関係が得られているに過ぎない。本研究では、ゴムの酸化劣化機構の解明を目的として、固体 NMR を用いて酸化に伴うゴム構成分子の局所構造変化、および分子運動性変化などの分子情報の取得を試みた。920MHz NMR を用いて高感度で天然存在比同位体を観測し、運動性選択的スペクトルの測定および解析に基づき構造変化部位を特定した。さらに緩和時間解析により局所的運動性変化を同定し、酸化劣化に伴う架橋点構造、および物性変化の解析を行っている。

#### B-1) 学術論文

**P. PANDIT, K. YAMAMOTO, T. NAKAMURA, K. NISHIMURA, Y. KURASHIGE, T. YANAI, G. NAKAMURA, S. MASAOKA, K. FURUKAWA, Y. YAKIYAMA, M. KAWANOE and S. HIGASHIBAYASHI**, “Acid/Base-Regulated Reversible Electron Transfer Disproportionation of N–N linked Bicarbazole and Biacridine Derivatives,” *Chem. Sci.* **6**, 4160–4173 (2015).

**S. ITO, W. WANG, K. NISHIMURA and S. NOZAKI**, “Formal Aryne/Carbon Monoxide Copolymerization to Form Aromatic Polyketones/Polyketals,” *Macromolecules* **48**, 1959–1962 (2015).

**T. ASAKURA, T. OHATA, S. KAMETANI, K. OKUSHITA, K. YAZAWA, Y. NISHIYAMA, K. NISHIMURA, A. AOKI, F. SUZUKI, H. KAJI, A. S. ULRICH and M. P. WILLIAMSON**, “Intermolecular Packing in *B. mori* Silk Fibroin: Multinuclear NMR Study of the Model Peptide (Ala-Gly)<sub>15</sub> Defines a Heterogeneous Antiparallel Antipolar Mode of Assembly in the Silk II Form,” *Macromolecules* **48**, 28–36 (2015).

**T. IJIMA, T. SHIMIZU and K. NISHIMURA**, “<sup>2</sup>H NMR Pure-Quadrupole Spectra for Paramagnetic Solids,” *J. Magn. Reson.* **251**, 57–64 (2015).

#### B-4) 招待講演

西村勝之, 「固体 NMR を用いた分子科学研究」生命分子ダイナミクスの探求を目指す次世代 NMR 研究会, 岡崎, 2015 年 1 月.

**M. YAGI-UTSUMI, K. NISHIMURA and K. KATO**, “NMR characterization of conformational transition of amyloid- $\beta$  peptide promoted on ganglioside clusters,” The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem2015), Honolulu (U.S.A.), December 2015.

**K. OKUSHITA and T. ASAKURA**, “Structure of *Bombyx mori* silk fibroin determined with NMR,” 9<sup>th</sup> European Solid Mechanics Conference (ESMC2015), Leganés-Madrid (Spain), July 2015.

**K. OKUSHITA and T. ASAKURA**, “Structure of *Bombyx mori* silk fibroin studied with NMR,” The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem2015), Honolulu (U.S.A.), December 2015.

#### B-6) 受賞, 表彰

西村勝之, 日本核磁気共鳴学会 優秀若手ポスター賞 (2002).

#### B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本核磁気共鳴学会評議員 (2009–2010, 2013–2014).

日本核磁気共鳴学会選挙管理委員 (2005).

日本生物物理学会分野別専門委員 (2004–2009).

学会の組織委員等

第27回生体系磁気共鳴国際会議 (ICMRBS) 実行委員, プログラム委員 (2013–2016).

第51回NMR 討論会プログラム委員 (2012).

学会誌編集委員

日本生物物理学会欧文誌 *Biophysics*, Advisory board (2005–2009).

*Global Journal of Biochemistry*, Editorial Board (2010–2013).

#### B-8) 大学での講義, 客員

名古屋大学リトリート研修, 「920 MHz NMR 講習」2015年11月17日。(奥下慶子)

#### B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(C), 「非標識固体試料解析のための固体NMR 新規測定法開発」西村勝之 (2013年–2015年).

科研費基盤研究(C), 「固体NMR による新規室温磁場配向膜を用いた膜表面性タンパク質脂質結合機構の解明」西村勝之 (2010年–2012年).

科研費萌芽研究, 「試料状態変調型固体NMR プローブ開発とその適用」西村勝之 (2008年–2009年).

(財)新世代研究所研究助成, 「生体含水試料のための低発熱型新規固体NMR ナノ構造解析法開発」西村勝之 (2005年).

科研費若手研究(B), 「脂質膜結合生理活性ペプチド立体構造解析のための低発熱型固体NMR 測定法開発と適用」西村勝之 (2004年–2005年).

科研費若手研究(B), 「スペクトル解析を容易にする常磁性物質の固体重水素 NMR 法の開発」飯島隆広 (2012年–2014年).

科研費若手研究(B), 「揺動磁場下の固体高分解能NMR—二次元展開と高速化—」飯島隆広 (2008年–2009年).

科研費若手研究(B), 「新規な多量子コヒーレンス生成法に基づく固体高分解能NMR」飯島隆広 (2006年–2007年).

科研費基盤研究(C), 「タンパク質分子内情報伝達の分子機構」谷生道一 (2012年–2014年).

#### B-11) 産学連携

(株)新日鉄住金化学, 「炭素材料の構造解析」西村勝之 (2015年).

(株)横浜ゴム, 「酸化劣化に伴うゴム構造変化の解析法に関する研究」奥下慶子 (2015年).

#### C) 研究活動の課題と展望

昨年度1年間は一人で研究を行ってきたが, 本年度より特任助教の奥下さんが新たに本グループに加わった。しかし, 依然としてグループの規模は小さく, メンバーの増員が必要であると考えている。ここ数年間, 所内外の研究グループと共同研究を通して生体分子の構造解析を行ってきた。いずれの共同研究も目標を順調に達成できている。今後, これまで培った研究ノウハウを生かし, 特に脂質膜と相互作用する生体分子に関して, さらに所内外の研究グループとの共同研究を加速させたいと考えている。また生体分子に加え, 所外からの分子材料の構造解析研究の依頼もあり, これらを対象とした測定法の開発研究も進めて行きたい。本年度は, 念願だった当グループのNMR 分光器の更新が叶ったため, 今後, 共通機器で共同研究の測定を行いつつ, 開発研究をグループ所有の分光器で行うことで, さらに研究を加速させたいと考えている。