

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)」採択事業



木川 隆則
(NMRプラットフォーム代表・理化学研究所)

共用体制の整備 (1)

北大先端NMRファシリティ 施設・NMR装置概要



先端生命科学研究所



理学研究所

エリア	メーカー	周波数	分光器	試料
先端	Bruker	800MHz	Avance NEO	溶液
先端	Bruker	800MHz	Avance NEO	溶液/固体/半固体
先端	Bruker	600MHz	Avance III HD	溶液
先端	Bruker	600MHz	Avance	溶液
先端	Agilent	600MHz	Unity INOVA	溶液
先端	Agilent	500MHz	Unity INOVA	溶液
先端	Agilent	500MHz	Unity INOVA	溶液
理学	Bruker	600MHz	Avance III HD	溶液
理学	JEOL	600MHz	ECA II	溶液/固体/半固体
理学	JEOL	600MHz	ECA	溶液
理学	Magritek	60MHz	Spinolve Ultra	溶液

東北大東北メディカル・メガバンク機構 NMR共用設備

- 全てクライオプローブとサンプルチェンジャー (低温保管機能付) を装備
- 遠隔操作と自動測定に対応



Bruker 600MHz NMR TCI CryoProbe Avance Neo SampleJet (低温ユニット)
Bruker 800MHz NMR TCI CryoProbe Avance Neo SampleJet (低温ユニット)
Bruker 600MHz NMR TCI CryoProbe Avance IIIHD SampleJet (低温ユニット)

東京大学大学院薬学系研究所

共用機器



TCI クライオプローブ Avance III HD 分光計
TXI クライオプローブ Avance 分光計

~30 kDa 程度のタンパク質のみならず、膜タンパク質等の高分子量のタンパク質に対しても適用可能な独自の測定技術を活用し、動的構造解析を可能にする実施体制を整える。

理化学研究所 NMR研究基盤

多彩な13台の外部共用装置
高温度伝導技術 次世代NMR装置
In-cell NMR技術
Exogenous protein delivery
安定同位体標識技術 立体構造解析パイプライン
He酸化施設

共用NMR装置 世界最高レベル高感度装置

全て溶液用TCI型クライオプローブ付き 感度を完全公開

- 950MHz 溶液感度: 12,270 (18500MHzの27倍) LC-NMR感度: 0.03μg 8分で測定 固体NMR (1.3mmφ ultra-fast MAS) 固体Glycine感度: 125 (500の3倍) (参考900MHz: 108)
- 500MHz 溶液感度: 6,146 (14倍) 参考値: 600MHz (1990年) 溶液感度: 450
- 700MHz 溶液感度: 7975 (18倍) LC-NMR 0.3μg 8分で測定 ¹⁹Fプローブ ¹⁹F感度 7476 0.05%TFT
- 800MHz 溶液感度: 10,068 (22倍)、オートサンプラー 最大試料管数: 17cm試料管30本、10cm長試料管480本
- 600MHz 溶液感度: 7,733 (17倍)

自然科学研究機構 生命創成探究センター

800MHz (2013年度導入) Avance NEO (2021年度導入予定)

磁場	18.79 T
感度 (S/N)	¹ H = 8800, ¹³ C = 1900
プローブ	・ 5 mm H-C-N TCI 型 Cryo ・ 観測核: ¹ H ・ 観測核: ¹³ C, ¹⁵ N ・ 温度範囲: -5~+75 °C ・ Auto Tune: ○
システム	OS: CentOS 5 Software: TopSpin2.1

500MHz
5mm TXI Cryo (H, ¹³C, ¹⁵N)
400MHz
5mm BBO (H, BBO)

大阪大学蛋白質研究所 共同利用共同研究拠点

■ 溶液 NMR 装置 リモート測定に対応
■ 固体 NMR 装置

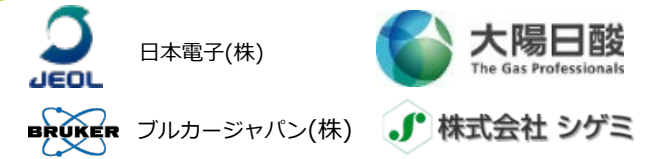
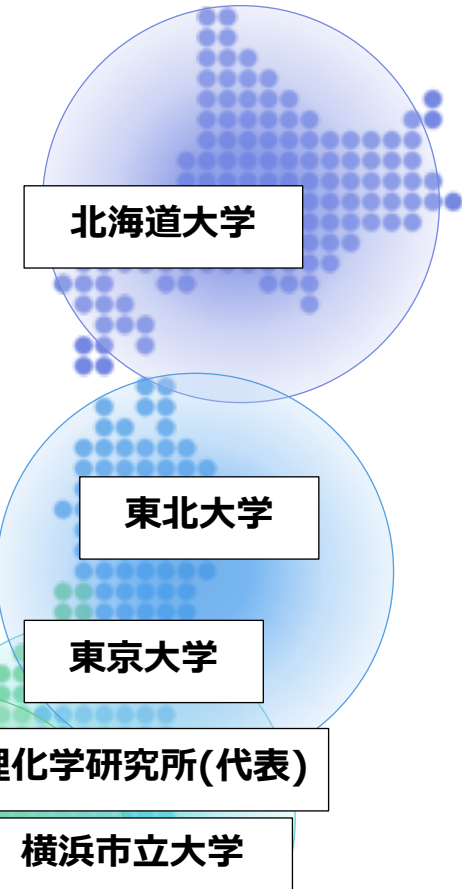
- 950 MHz 世界最高クラスの感度
- 800 MHz 高感度超低温プローブ
- 700 MHz DNP 世界最高クラスの超低温 DNP超高温感度検出装置
- 700 MHz 1mmローター超高温MAS
- 600 MHz 高感度超低温プローブ
- 500 MHz 高感度超低温プローブ
- 400 MHz ¹⁹F 検出プローブ 60核体オートサンプリング
- 600 MHz DNP
- 500 MHz

溶液950 MHz: 世界最高クラスの感度 溶液400-950 MHz: 国内最大の磁場強度増幅
国内にも最高レベルの NMR 装置群、多様なニーズに対応可能
国内トップクラスの研究・施設運用実績

広島大学 中国地域の研究機関・企業への研究支援・技術支援のための NMR 施設

中国地方フロンティアネットワーク
連携体制
NMR 装置群
広島大学 自然科学研究基盤センター 共同利用・共同研究

Bruker: 500 MHz
Varian (Agilent): 400 MHz/ 500 MHz/ 600 MHz
Bruker: 700 MHz
Bruker: 500 MHz

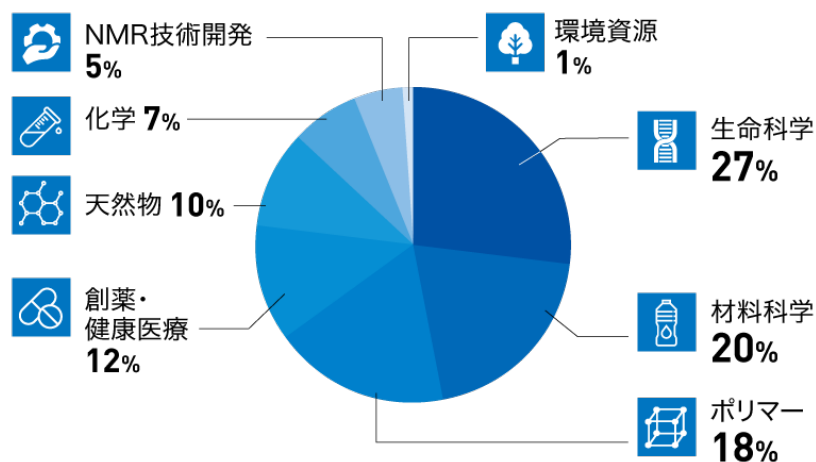


共用体制の整備 (2)

- 分散型研究基盤
8実施機関 4協力機関
- 共用装置46台
(800MHz以上14台 (組織率~50%))
世界有数のNMR研究基盤 (EU圏に次ぐ規模)
- 経験豊富なスタッフの充実 (22名、内リエゾン7名)
- 多様な利用分野へ対応
- 多彩な支援メニュー (試料調製、データ解析等も)
- 遠隔利用環境の整備 “どこからでもどこへでも”
(TeamViewer/Remote Desktop/クラウドPC)

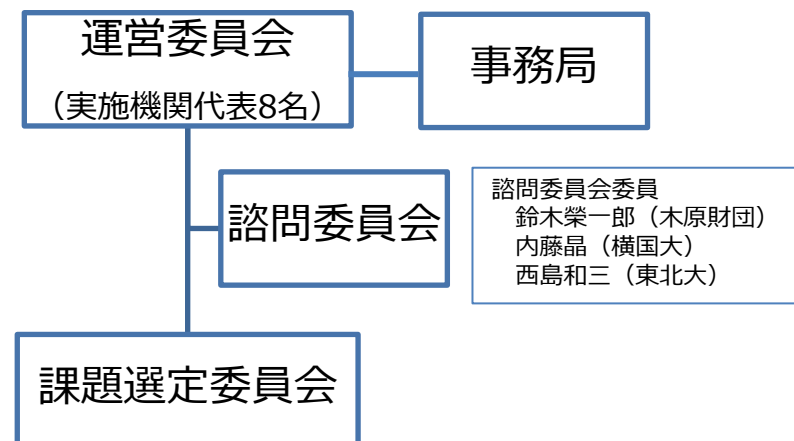
NMR-PF ポータルサイト (<https://nmrpf.jp>)
(282,940 PV/年)

- 情報提供
施設情報、利用案内、事例、
教材、課題申請
- ワンストップサービス窓口



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

運営体制



- 課題選定委員会委員
- 池上貴久 (横浜市)
 - 石井佳誉 (東工大)
 - 加藤晃一 (ExCELLS)
 - 木川隆則 (理研)
 - 小柴生造 (東北大)
 - 嶋田一夫 (理研)
 - 鈴木榮一郎 (木原財団)
 - 竹内恒 (東大)
 - 楯真一 (広大)
 - 出村誠 (北大)
 - 内藤晶 (横国大)
 - ◎西島和三 (東北大)
 - 西村善文 (横浜市)
 - 藤原敏道 (阪大)

利用形態と実績

機関独自運用

形態	情報・成果	利用料金
成果非公開型	非公開	有償
成果公開型	公開	無償／有償 (減額あり)
他の共用取組 (共共拠点、AMED BINDS等)	公開／非公開	無償／有償 (減額あり)

NMRプラットフォーム運用

形態	情報・成果	利用料金	採択課題
先端研究課題	公開	無償	31 (募集7回)
連携・人材育成	公開	無償	1

「先端研究課題」：NMR技術領域の拡大発展に寄与する利用課題
「連携・人材育成」：施策・コミュニティ連携、人材育成の推進
例：NMR技術職員コミュニティ (NMR club)

利用実績	アカデミア			産業界			計			リモート 利用
	時間(h)	件数	収入(千円)	時間(h)	件数	収入(千円)	時間(h)	件数	収入(千円)	件数
2021年度	8,334	13,729	52,593	3,805	235	27,300	12,139	13,964	79,893	892
2022年度	30,090	13,605	69,569	3,080	290	25,882	33,170	13,895	95,451	1,237

成果実績	論文数 (1台あたり)	民間企業を含む新規 利用者数	機器共用を契機とし た研究計画の高度化 や新規共同研究件数	利用問い合わせ件数
2021-2022年度	305 (6.6)	107	54	930

「先端研究課題」採択一覧

機器・技術特性に応じた
最適施設の利用が進む

●複数機関利用 ■統合解析 ※中間評価 ※※最終評価

<https://nmrpf.jp/guides/selected-proposals/>

採択回	課題名	所属機関名	実施責任者	利用施設
2023年度 第2回	●■高分子量蛋白質をターゲットとした19F-NMRスクリーニング	CBI研究機構量子構造生命科学研究所	上村 みどり	大阪大学、東京大学
	SAIL-NMR法を利用したアルギニン、リジン残基の側鎖と芳香環との原子間相互作用の解析方法の開発	東京薬科大学	武田 光広	理化学研究所
	NMRを用いたウイルス蛋白質のドメインの立体構造及びフォールドの検証	国立大学法人東京農工大学工学研究院生命機能科学部門	黒田 裕	理化学研究所
	異なる周辺膜環境における複数回膜貫通型タンパク質の物性・構造解析	横浜市立大学大学院生命医科学研究科	高橋 栄夫	東京大学
	固体NMRによる細胞膜中のイオン輸送型ロドプシンの立体構造解析	横浜国立大学大学院工学研究院機能の創生部門	川村 出	理化学研究所
2023年度 第1回	■高分解能13CNMR測定によるビニル重合系高分子の立体規則性の解析	名古屋工業大学	松岡 真一	理化学研究所
	深海からの新規カロテノイドの構造決定	高知大学農林海洋科学部	寺本 真紀	広島大学
2022年度 第3回	ふたつの異なるゲスト分子を包接する積層型ポルフィリンホスト分子の合成	広島大学先進理工系科学研究科	灰野 岳晴	広島大学
	■強力な電位依存性ナトリウムチャンネル阻害活性を有する天然物の構造決定	東北大学大学院農学研究所天然物生命化学分野	山下 まり	理化学研究所
	HIVエンベロープスパイク蛋白質の膜近傍のエピトープを認識する抗体の相互作用解析	九州大学大学院薬学研究院	Jose M.M. Caaveiro	生命創成探求センター
	修飾ヌクレオチドを利用した核酸ループ領域のシグナル帰属	産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門	山崎 和彦	東京大学
2022年度 第2回	パターン認識受容体とリガンド糖鎖の相互作用解析	東北医科薬科大学	真鍋 法義	東北大学
	生体活性ガラスの歯質欠損修復機能の解析	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野	平石 典子	理化学研究所
	※※GPCR・モジュレーター特異的複合体の構造:単独で特定の構造を形成しないペプチドのペアを用いた解析	群馬大学	若松 馨	理化学研究所
	■※NMRと電子顕微鏡を用いたハイブリッド動的構造解析	徳島大学先端酵素学研究所	齋尾 智英	北海道大学
	※※凍結保護ポリマー溶液の低温時の分子ダイナミクス測定による凍結保護機序の解明	北陸先端科学技術大学院大学	松村 和明	理化学研究所
2022年度 第1回	※※ポルフィリンとトリニトロフルオレノンの超分子錯体形成を利用した分子の配列構造制御	広島大学大学院先進理工系科学研究科	灰野 岳晴	広島大学
	※※機能性ナノグラフェンの開発	広島大学大学院先進理工系科学研究科基礎化学プログラム	関谷 亮	広島大学
	※K,Na,NbO3をドーブした珪酸塩系ガラスの93NbおよびMQMAS測定による局所構造解析	名古屋工業大学 技術部 計測分析課	瀧 雅人	理化学研究所
2021年度 第2回	※微小重力下で形成したアミロイド線維の多次元高分解能固体NMR解析	自然科学研究機構 生命創成探究センター	矢木 真穂	理化学研究所
	※N-メチルペプチドの立体構造解析基盤としてのKarplus係数の決定およびその応用	東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻	森本 淳平	東京大学
	■※高磁場高分解能NMRを利用したマルチキャリアイオン伝導性酸化物の欠陥状態の解明	東北大学大学院工学研究科知能デバイス材料学専攻	及川 格	理化学研究所
	■※植物感染細菌由来リン脂質合成酵素PmtAの構造生物学的研究	山形大学理学部理学科	渡邊 康紀	北海道大学
	●※糖鎖の構造決定および糖鎖-タンパク質の相互作用解析	東北医科歯科大学	山口 芳樹	東北大学、生命創成探求センター
	※Na-Si-O-F-N系複合アニオンガラスのO-17 MAS、MQ MAS NMRによる局所構造解析	東北大学 総合技術部 分析・評価・観測群	安東 真理子	理化学研究所
2021年度 第1回	※低分子量GTPase Rac1の細胞内動的構造解析	千葉大学大学院薬学研究院	西田 紀貴	東京大学
	※溶液環境がエピゲノム修飾二本鎖DNAの運動性に及ぼす影響の解析	京都大学大学院工学研究科	菅瀬 謙治	横浜市立大学
	●※マルチドメイン蛋白質と天然変性蛋白質のアンサンブル構造解析	東京都市大学 理学研究科	池谷 鉄兵	理化学研究所、横浜市立大学、大阪大学
	●※タンパク質における特異なプロトン化状態とその動態のNMR観測と、そのための手法開発	東京薬科大学	三島 正規	理化学研究所、北海道大学
※NMR緩和分散法によるタンパク質の構造ダイナミクスの解析	東京大学 大学院総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系	新井 宗仁	理化学研究所	
※DNP-NMR用極低温トップロードプローブの開発	株式会社JEOL RESONANCE	谷本 祐介	大阪大学	

人材育成・施策連携

人材育成

- 講習会・セミナー開催 37回 のべ1248名
- ICT+ハンズオン（北大） 全学サマープログラムにも活用
- 「連携・人材育成」枠の新設

連携

- プラットフォーム内
 - 利用課題の相互紹介
例：材料分野のCu⁶³測定 理研→阪大
- プラットフォーム間
 - 定期的会合、相互宣伝、共同宣伝@JASIS、セミナー共催
- コアファシリティプログラム
 - 北大；人材コンソーシアム準備、阪大、広大、東北大
- コミュニティ
 - よこはまNMR、次世代NMR、AMED BINDS、NMR Club
- 国際連携
 - wwPDB/BMRB運営

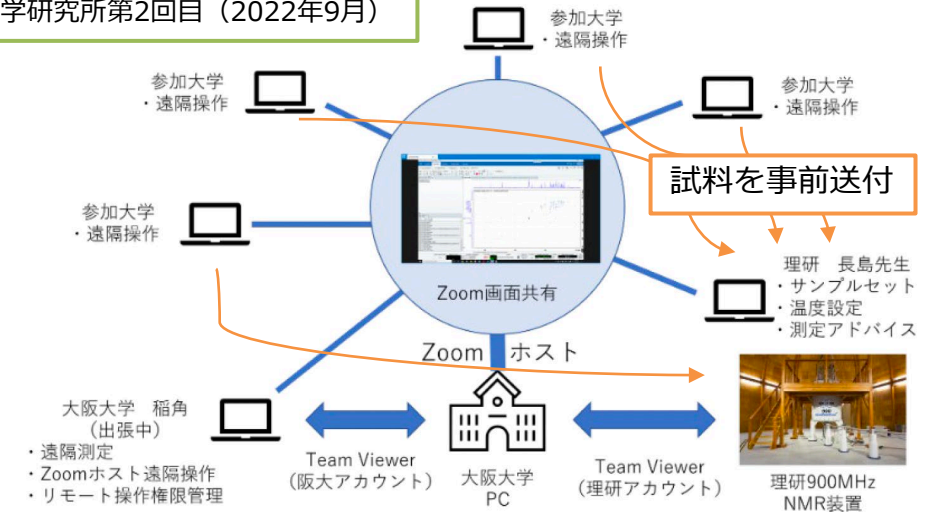
連携・人材育成利用枠「NMR 担当技術職員ネットワーク（NMR Club）」における高磁場 NMR 遠隔利用環境の構築

技術指導・講習会（遠隔/オンサイト）

理化学研究所	3回	高磁場NMR・遠隔測定
大阪大学	1回	高磁場NMR・高速測定
北海道大学	1回	高磁場NMR・メタボロミクス実習

参加者：大阪大、鳥取大、名工大、東北大、名大、北大、岩手大、山梨大、鹿児島大、早稲田大、千葉大、広大、長崎大、熊本大

理化学研究所第2回目（2022年9月）



【成果】

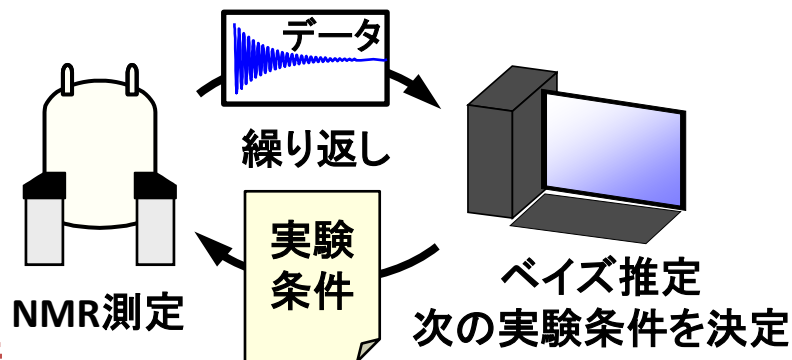
高磁場NMR装置の性能を実体験
新規手法・異分野手法の習得
人材交流
新規利用課題の創出・発掘

データ共有・利活用技術



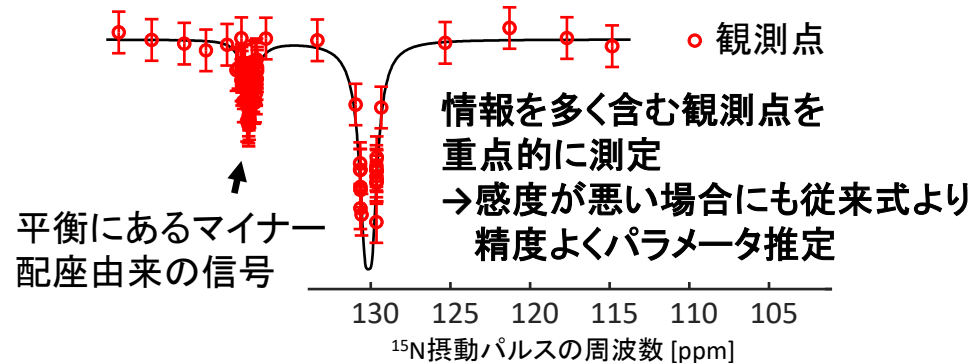
適応的NMR測定(理研)

測定中にデータ駆動的・合理的に
実験条件を探索・決定
事前の予備実験不要



測定自動化を実現する基盤技術

CEST (chemical exchange saturation transfer) 実験



データ駆動型解析(北大)

地方大学・公設試・
企業・フィールド等

高磁場NMR@NMRPF

機械学習
高精度教師データ



卓上NMR・
低磁場NMR



低精度データの
解析を高精度化

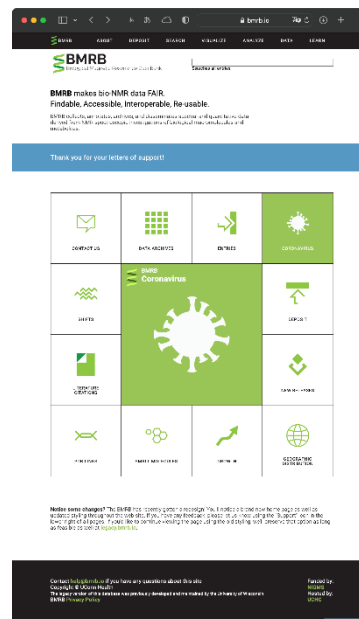
■NMRメタボロミクス
医療、食品農林水産物
成分分析
⇒大規模データ活用診
断技術
製品改良への活用



結果のフィードバック

AI駆動型解析技術

全自動アノテーション技術(阪大)



- ・生体分子構造データベース(wwPDB)の一員(PDBJを運用)
- ・生体系NMRデータベース(BMRB)のアジア拠点、データ登録(アノテーション)を分担
- ・登録担当専門家が作業(従来)
- ・完全自動化を実現



ノウハウをソフトウェアとして
形式化する基盤技術

機器・技術高度化

DNP法によるNMRの高度化開発（大阪大学）

日本電子と連携し、既存の装置よりも超高感度の性能を持つDNP（Dynamic Nuclear Polarization）-NMRシステムを構築。生命科学分野、材料分野等への利用が強く期待されている。



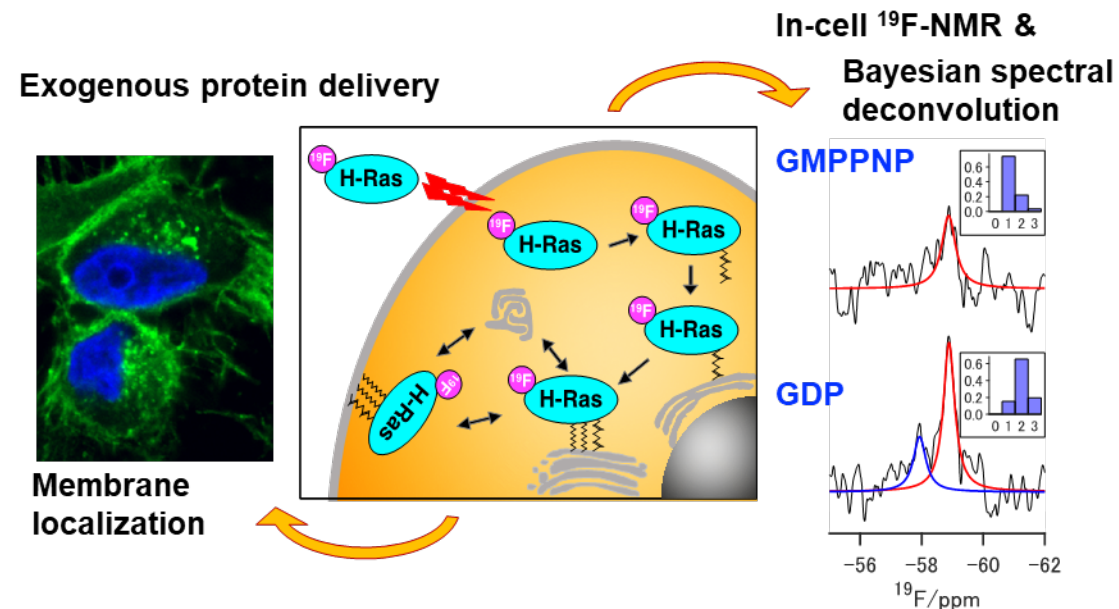
高磁場700MHz DNP-NMR装置

極低温検出器とDNPを組み合わせ、感度利得を亢進できるMAS NMRプローブを開発。総合感度利得が4000倍まで出るようになった。（Y. Matsuki et al., J. Magn. Reson. 335, 107139 (2021)）

また、自在変調マイクロ波光源を搭載した新型DNP-MAS-NMR装置の建設中。信号増強の観測に成功した。これにより標的分子の選択観測や背景消去法の開発が進むようになり、夾雑系生体試料への応用が広がる。

生きた細胞内のタンパク質を観測する技術（理化学研究所）

In-cell NMR法は、生きた細胞内の生体高分子の挙動を原子分解能で調べることができる計測法であるが、膜結合タンパク質の計測はこれまで困難とされてきた。



がん化に深く関わるRasは、C末端の超可変領域（HVR）を介して細胞膜に結合しており、細胞内の複数のシグナル伝達経路を制御する分子スイッチとして働いている。

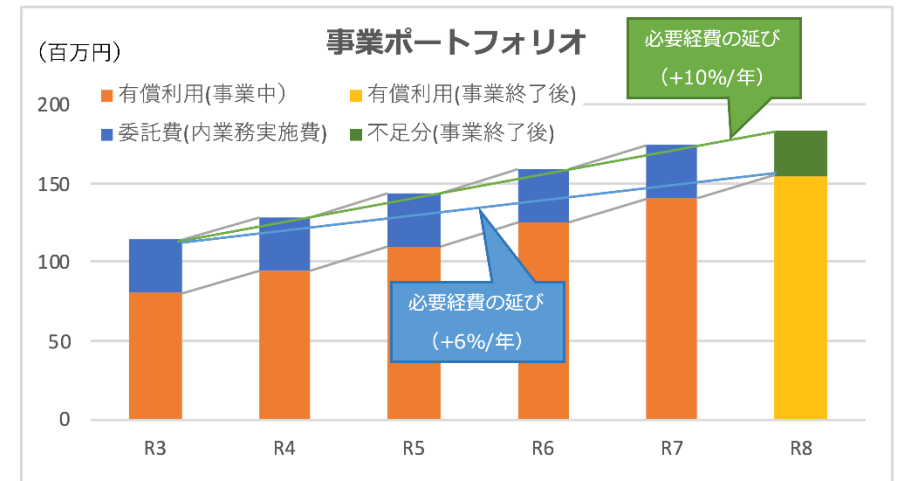
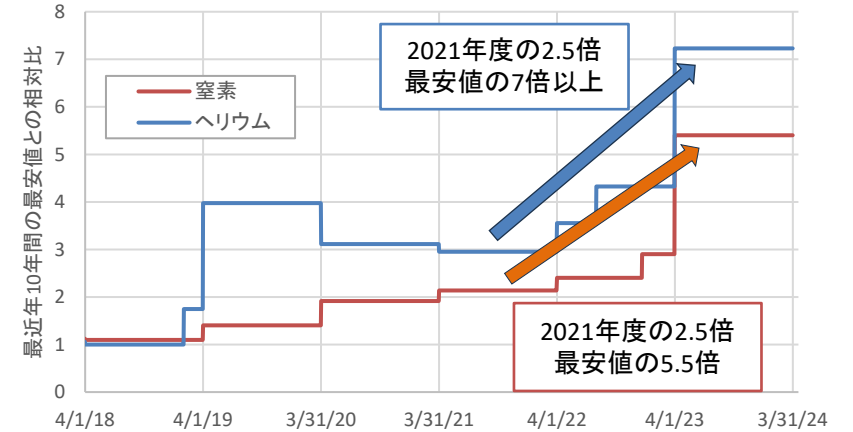
部位特異的¹⁹F標識法とベイズ推定を活用することで、高等動物細胞の膜結合タンパク質Rasを生きた状態で計測（in-cell NMR）を実現した。（M. Ikari et al. JACS Au, 3, 1658 (2023)）

NMR研究基盤の状況

- 新世代高磁場装置 (高額: 20-30M€)
市販機 (1.2GHz Bruker) 欧:8+4、米:1、韓:+1
1.3GHz(日) / 1.5GHz+(米) 開発プロジェクト進行中
- 定常的維持管理、機器利活用、高度な解析
高度専門人材が必要
- 単一組織レベルでの持続可能な運用難しく
- COVID-19パンデミック
- ロシアによるウクライナ侵略、イスラエル・ガザ危機
- 円安
 - 移動・活動制限、物流逼迫・混乱
 - エネルギー高騰、半導体不足
 - 冷媒 (ヘリウム、窒素) 高騰、入手難
 →運用困難による機器停止始まる コミュニティの危機
- 海外は拠点形成進む コミュニティ共有の時代に
 欧州: 分散型拠点形成 (ネットワーク化) の先駆的取組
 中国、韓国: 少数拠点への集中的設置
 米国: NSF Mid-scale Research Infrastructure-1, 2
 (\$20M-\$100M)で拠点形成遅れ挽回

NMR-PF参加機関
機関内でヘリウム回収・液化
冷媒危機を乗り越ってきたが...

冷媒価格の推移 (理研)

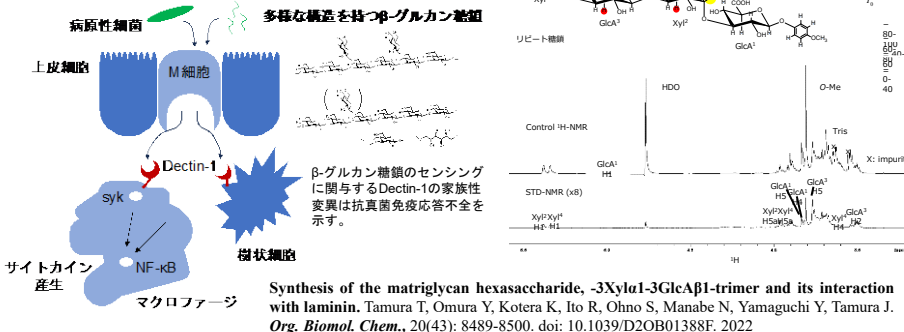


参考: R5理研基盤運転経費 + 20% (対R4)

糖鎖の構造決定および糖鎖-タンパク質の相互作用解析

東北医科薬科大学(利用機関:東北大学、自然科学研究機構)

腸管におけるβ-グルカン糖鎖のセンシング

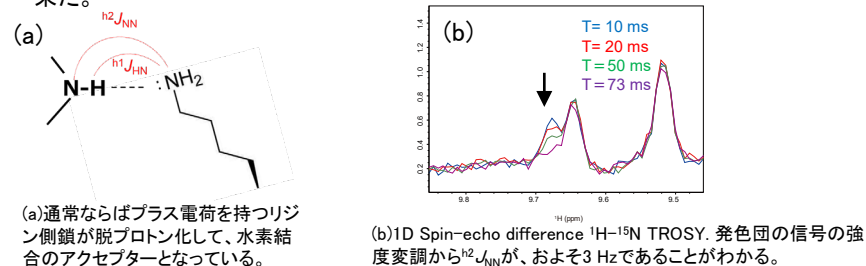


ラミニンは特殊なリピート糖鎖(グルクロン酸-キシロース)と相互作用することにより、筋組織を安定化している。このリピート糖鎖の合成不全は筋ジストロフィーを発症する。高感度プローブを装着した高磁場NMR装置(800 MHz)を用いることにより、相互作用様式の一部を明らかにした。

特異なプロトン化状態と特異な水素結合の同定

東京薬科大学(利用機関:理化学研究所)

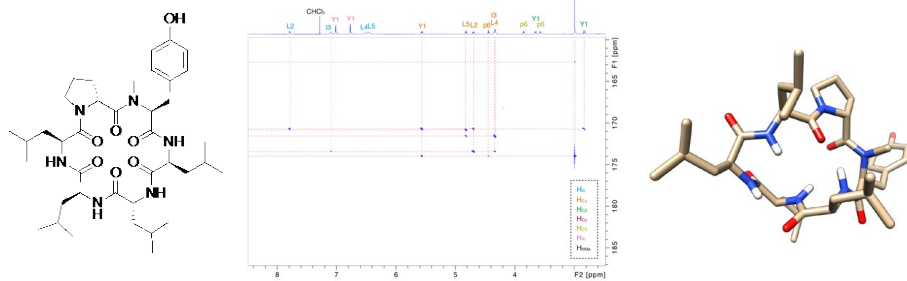
リシンの側鎖のNH₂が電荷を持たず、近傍のリガンドのNH基と水素結合を形成し、かつ水素結合の「アクセプター」になっていることを同定した。NHのNから、リシン側鎖のNH₂のNに対して、水素結合経路のスピ結合^{h2}J_{NN}が(a)、2.5 Hzの大きさで存在することを突き止めた。線形が良く高感度である高磁場(900MHz)の装置を用いることで定量性の高い測定を行うことが出来た。



中分子非典型ペプチドの溶液NMR構造の解明

東京大学(利用機関:東京大学)

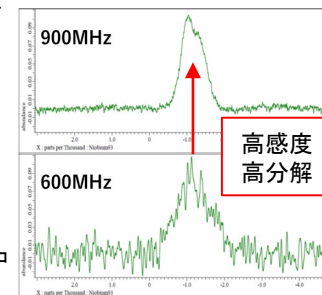
極低温クライオプローブを装着した超高磁場NMR装置を使用することで、N-メチル置換基を持つ非典型環状ペプチドMP1の残基内Hα(i)-CO(i) および残基間 Hα(i)-CO(i-1) の相関シグナルを観測して、共有結合に基づく連鎖帰属を行い、立体構造を決定できた。(Hosono et al, *Nat. Commun.* (2023) 14, 1416)。



K,Na,NbO3 をドープした珪酸塩系ガラスの93Nb および MQMAS 測定による局所構造解析

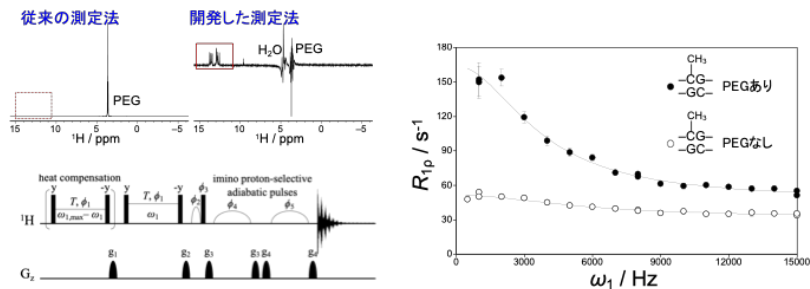
名古屋工業大学(利用機関:理化学研究所)

ペロブスカイト結晶の強誘電性、高い電気機械特性、高い光電気変換特性を引き出さうな新規な結晶化ガラスの作製を目指して、K,Na,NbO₃をドープした珪酸塩系ガラスの開発を行っている。今回、固体900MHzを用いて、⁹³Nb hahn echo 測定および、MQMAS 測定を実施した。hahn echo 測定では、本学固体600MHz NMRでは得られなかった高感度、高分解能のスペクトルが得られ、より正確な配位構造の定量分析を行うことができた。現在、日独国際共同研究の中で、ガラス固体NMR 研究者と連携して結果の解析を行い、その結果をもとに新たに材料合成を行う計画が進行中である。



溶液環境がエピゲノム修飾二本鎖DNAの運動性に及ぼす影響の解析

京都大学(利用機関:横浜市立大学)

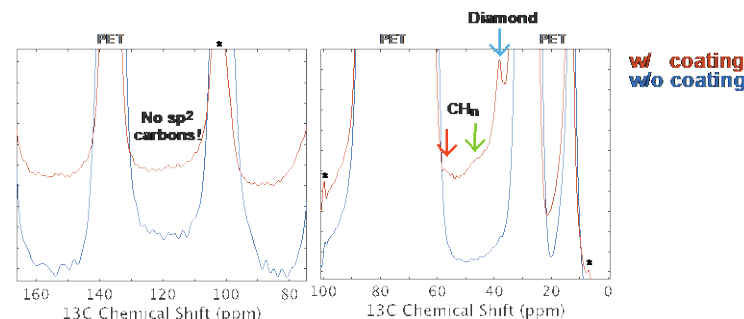


PEGにより核内を模倣した溶液環境中の二本鎖DNAの運動性を950 MHz NMRで解析した。新しく開発したパルスプログラムを用いることによって、測定対象のイミノプロトン(赤四角)のシグナルを感度良く観測できた。

機能性フィルム表面の化学解析

三菱ケミカル株式会社(利用機関:大阪大学)

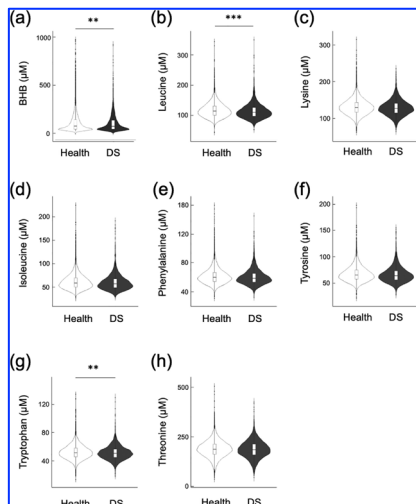
- PETフィルム表面のダイヤモンド薄膜がもつ化学種の有無と構造研究が目的
- 25nm薄膜からの信号を500倍厚いPET基材と区別して観測できた



700 MHz DNP-固体NMRでナノモル非標識試料の検出

NMRメタボローム解析

東北大学(利用機関:東北大学)

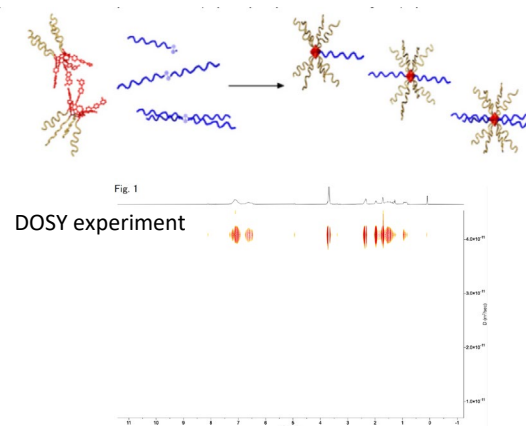
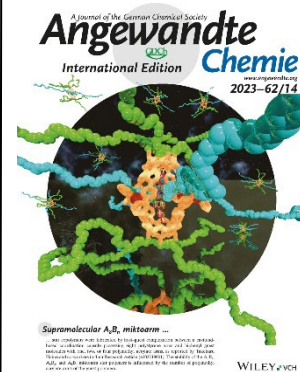


うつ病傾向にあるヒトに特徴的な血中代謝物の変動を解明

Decreased β-hydroxybutyrate and ketogenic amino acid levels in depressed human adults. Sato S, Yu Z, Sakai M, Motoike IN, Saigusa D, Hirayama R, Kikuchi Y, Abe T, Kinoshita K, Koshiba S, Tomita H. *Eur J Neurosci.* (2023) 57:1018–1032.

A8Bn Miktoarm Star Copolymers新規合成法の開発

広島大学(利用機関:広島大学)



N. Nitta, S.-i. Kihara, T. Haino, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2023, e202219001

- ホスターゲスト化学を応用して異なる数の polymethyl acrylate 鎖を保持する高分子複合体の新規合成に成功。
- 溶解度が限られる高分子複合体がいくつの polymethyl acrylate 鎖を保持するか定量する上で、高感度検出器による DOSY 測定が不可欠であった