

理化学研究所横浜研究所 NMR研究基盤 「NMR立体構造解析パイプライン」



独立行政法人 理化学研究所
生命分子システム基盤研究領域
木川隆則

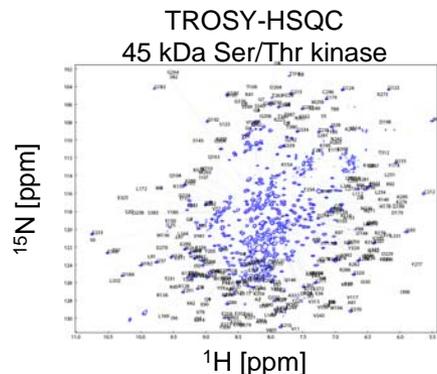
理研NMR施設の特徴

- 経験豊かな専門家による支援体制
 - 利用相談
 - 技術的指導・支援
 - 試料調製・構造解析支援(パイプライン)
- 良好な整備状態
 - 保守点検、定期点検、故障対応
- 多彩な装置(H24:24台)
 - Bruker BioSpin, Agilent, JEOL RESONANCE社製
 - 高感度プローブ、固体用プローブ
 - サンプルチェンジャー
 - 高感度プローブ付き900MHz, 800MHz装置
- 横浜市立大学、大阪大学との連携
- 文科省「先端研究施設共用促進事業」

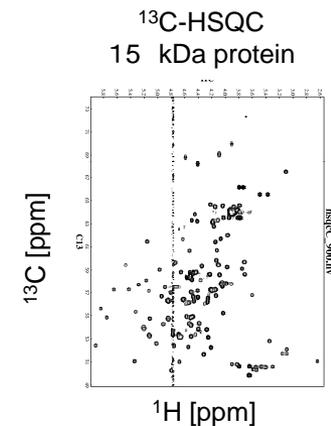
特色ある装置



- Bruker BioSpin社 900MHz
- CryoProbe装着 (TCL type)
- S/N ^1H : > 9,000; ^{13}C : > 800



- Agilent社 900MHz
- S/N ^1H : > 2,000

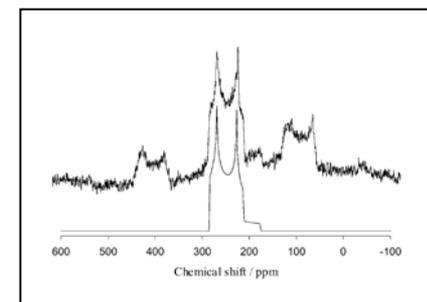


- Bruker BioSpin社 700MHz
- CryoProbe装着 (TCL type)
- SampleJet装着
- ICON NMRによる多試料自動測定



- JEOL 700MHz
- 固体測定仕様
 $\Phi=4\text{mm}$ MAS (20kHz)

^{17}O MAS spectrum of tripeptide (W*-G-G)



Yamada et al. Z. Naturforsch.
2007, 62b 1422-1432

NMR研究基盤共用のための体制整備

- 利用形態・課金制度
 - 共同研究ではない形態
 - 有償利用（成果公開・非公開）
 - トライアル利用（産業界向け）
 - 被災者支援
- 課題選定の仕組み
 - 有識者委員会
（外部と内部から構成）
- 環境整備
 - Webサイト
(<http://ynmr.riken.jp>)
 - 電子申請
 - 利用者用居室、実験室
 - 文書整備
利用手引きなど
 - セキュリティ強化
 - 入退室
 - データ管理
- 規程整備
- 経験豊かな専門家による支援体制
 - 利用相談（遠隔会議可）
 - 技術的指導・支援
- 広報活動
 - 展示会・学会等での
セミナー・ブース出展
 - 事業報告会
 - 学会誌広告
- 横浜市大、阪大蛋白研との連携
 - 連絡協議会
 - セミナー共催
 - 課題選定委員
- ユーザー会
理研NMR施設利用者懇談会

利用実績

			H19	H20	H21	H22	H23	計
無償	イノベーション	戦略分野 利用推進	10	25 (10)	31 (25)	17 (17)	-	31
		新規利用 拡大	3	2 (1)	2 (0)	0 (0)	-	6
	トライアルユース		-	-	7	14 (5)	12	28
	被災者支援						2	2
	小計		13	27 (11)	40 (25)	31 (22)	14	67
有償	成果占有利用		のべ90課題を超える利用					>90
	成果非占有利用		13 (6機関)	12 (9機関)	17 (9機関)	32 (9機関)	26 (12機関)	100

●無償利用67件中49件が新規の利用

(事業開始以前に理研NMR施設と関係が無かった利用)

●ライフサイエンス、医薬分野だけではなく、食品・日用品、化学、材料・素材、分析分野への利用が広がる

成果事例

イノベーション事業利用課題:

反応性官能基の導入による高性能ポリマーの開発 (株式会社ブリヂストン)

- 利用装置: 900MHz クライオプローブ付き
- 対象: スチレンブタジエンゴム (SBR)
- 課題: 高性能ポリマー開発のための「NMR を用いたポリマー中における反応性官能基の構造解析手法の開発」。**タイヤ用ゴム**の様なポリマー／ナノファイバー複合体の末端変性のような反応性官能基の構造決定、反応率の定量を高磁場NMR装置を用いて進めれば、**変性ポリマーの「構造⇔物性相関」に対する理解が飛躍的に進み、ひいては高性能ポリマー開発が加速されるものと期待できる。**

【結果】実用分子量 ($M_n > 100k$) のポリマーを用い、分子鎖一本にひとつの開始末端 (n-ブチル基の CH_3) を、 ^{13}C スペクトル上で定量することが出来た。この結果により、一本の分子鎖中にある各モノマー数から正確な分子量 (M_n) を求めることが出来た。同様の解析を低分子量モデル ($M_n < 10k$) にて行った報告例はあるが、**実用分子量のゴムに関する事例は非常に少ない。**今後、**新たな高性能ポリマーの分子設計にあたり、超高磁場NMR が有力な開発ツールとなる事が期待される。**
(NMR施設利用報告書)



イノベーション事業利用課題:

酵素改変体のセルフリー合成と評価 (味の素株式会社)

- 利用装置: 600MHz クライオプローブ・サンプルチェンジャー付き
パイプライン試料調製利用
- 対象: **酵素リパーゼ**
(油脂を加水分解し、脂肪酸とグリセロールを生成)
- 課題: **ハイドロテーパーセル燃料(BDF)の製造**において、従来法(アルカリ法)の課題を解決する**リパーゼを用いた方法は高コストであること**が問題であった。本課題においては、**リパーゼを高機能化**することにより、**BDFの製造コストを低減**することを企図した。

【結果】ラショナルに変異型リパーゼを設計した後、セルフリー合成系を用いて高活性型をスクリーニング。本タンパク質は分泌タンパク質のため、酸化還元条件を考慮した発現系とNMRによる産物の評価を通して**比活性の高い変異型リパーゼを生産することに成功。**今後、本課題で得られた変異型リパーゼを用いて、BDFの生成を試み、収率・生産性・製造コスト等を検討。本課題で用いた手法は、他の酵素でも適用可能であるため、**高機能化酵素を創生するうえで非常に有用。**

(NMR施設利用報告書)



成果事例

イノベーション事業利用課題： 凍害保護物質ポリマーの構造および水との 相互作用解析 (株式会社バイオベルデ)

- 利用装置: 400MHz, 600MHz, 700MHz, 800MHz (固体を含む)
- 対象: 凍結保護作用を持つ両性電解質高分子カルボキシル化ポリリジン
- 課題: 凍結保護効果の作用機序解明

【概要】NMRを用いて、凍結時のポリマー、水、塩の状態や運動性をモニターし、両性電解質高分子溶液の凍結保護効果の機序を調べた。その結果、両性電解質高分子は、凍結時に濃縮された塩イオンの動きを抑制する作用があることがわかった。このことが凍結濃縮に伴う急激な塩濃度上昇を抑え、細胞の破壊を抑制している可能性があり、既存の凍結保護剤との機序の相異が示唆された。

【期待される経済効果、雇用創出効果等の社会的インパクト】新規高分子系凍結保護剤が、細胞内への進入を必要とせず、外部環境を制御することで凍結障害から細胞を保護するための機序に関する新知見を得た。これを用いて、全く新しいタイプの凍結保護剤の提案が可能となり、再生医療用途では幹細胞や再生組織の保存といった新規展開が期待できる。また食品保存などの市場の大きな分野への進出も期待され、事業の拡大が見込まれる。

(NMR施設利用報告書より抜粋、改変)



トライアルユース利用課題： 低温増殖微生物の制御に向けた低温活性酵素の 解析 (日本ハム株式会社)

- 利用装置: 600MHz, 800MHz, 900MHz
- 対象: 抗病原菌活性を有する酵素
- 課題: 低温での活性発現のメカニズムの解明

【概要】食中毒原因病原菌の中には、冷蔵という低温の条件でも増殖するものが知られており問題となっています。天然に存在する酵素の中には、この様な低温での病原菌の増殖を抑制するものが知られており、この性質の解明が期待されています。解析の結果、酵素分子の低温での活性発現のメカニズムの解明につながると期待される、酵素分子の立体構造や温度変化に伴う立体構造の変化などの解析に成功しました。

【期待される経済効果、雇用創出効果等の社会的インパクト】鶏卵から得られる酵素などは食中毒原因菌の増殖を抑える作用があることから、すでに幅広い食品への利用がすすめられています。低温でも高い活性をもつ酵素の立体構造解析の研究を進め、その成果を応用することで、長期間にわたり食品を安全に保存する様々な技術の開発へとつながることが期待されます。食の安心 廃棄にともなう経済的な損失を減らす。



(NMR施設利用報告書より抜粋、改変)

共用事業を実施してきて

- メリット
 - (他流試合による) 技術力・知識の向上
 - (異分野) 課題からのフィードバック(発想、技術、知見)
 - 外部との交流、連携の深化・活性化
- 課題
 - 設備の老朽化・陳腐化への対応
 - 制度の並立、不統一
 - 利用料、訪問・滞在費用
 - 広報・宣伝
 - 企業のスピード感
 - サービス事業？
 - (独行は) 営利企業ではない
 - 働く人のキャリアパス・モチベーション

RI 共用ナビ (研究施設共用総合ナビゲーションサイト)



文部科学省
Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology
MEXT

研究施設共用総合ナビゲーションサイトは、
大学や独立行政法人等の研究機関が有する研究施設の共用（広範な分野の外部の利用）を促進するため、
産学官の利用者に対し必要な情報の収集・提供を行いつつ、研究開発活動に適切な研究施設までご案内するものです。

施設をさがす

《現 状》

○掲載サイト

- ・先端研究施設共用促進事業、先端研究施設共用イノベーション創出事業（終了）
- ・ナノテクノロジー・ネットワーク(ナノテクHPヘリンク)

○掲載情報

- ・共用促進事業の概要・趣旨
- ・実施機関の各種情報(施設概要、機器・設備の性能、利用条件、お問い合わせ等)
- ・各実施機関における成果(利用成果報告)

《課題と提案》

○掲載サイト、情報

- ・文科省として研究施設共用総合ナビゲーションサイトとしながら、掲載情報は一部の施策に限られている。
⇒最低限、文科省の共用に関わる施策を一元的に扱うHPが必要。

○一元窓口の創設

- 各機関の施設概要、利用条件等の記載のみである。
⇒そのような条件では、ある程度装置への理解がないとアクセスしづらい。研究、測定において実施したい内容から、最適な機関等を紹介するシステムが必要(ユーザ視点)。

○成果報告

- 成果報告書の掲載を行っているが、その記載程度等について明確でない。
⇒国の補助(援助)をいただいた上での利用であることから、統一した掲載ルールを定める必要。

○認知度

- アクセス数が低く、浸透しているとは言えない。
⇒他のHPへのリンクや周知活動等を積極的に行うことが必要



研究基盤としてのNMR施設

- 化学、材料、食品・環境、生命科学等で必須な研究ツール
- (特に最先端)装置は高額(導入費、運営費、アップデート)
- 定常的維持管理 ノウハウ・人員・コスト
 - (アカデミア)学部、部局レベルでの整備維持困難
 - (企業)大型装置の導入稀
 - (特に若手)研究者の流動性・自立を阻害
- 最新装置・技術にアクセスできる場の整備が必要
- 放射光施設・大型計算機は国レベルで整備
- 次の規模の機器(NMR、電子顕微鏡など)も戦略的な整備・配置が必要に

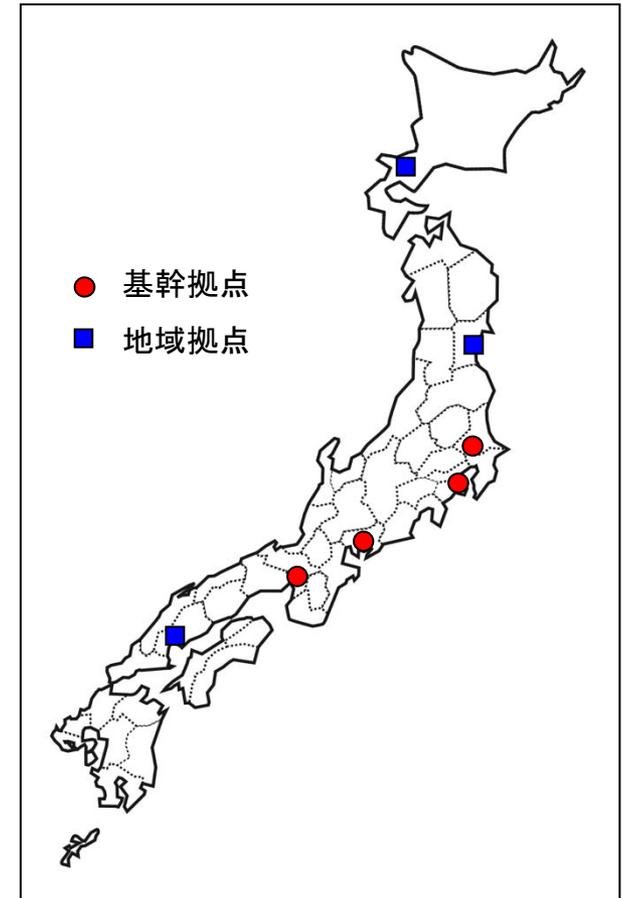
NMR施設ネットワーク構想

- NMR施設の連携体制を構築し、最先端NMR装置を共有する場を整備
 - 基幹拠点: 大型装置複数配置、特徴・得意分野、共用実績
 - 地域拠点: 地域の核、基幹拠点への橋渡し
- 最先端装置を戦略的・重点的整備、既存設備の有効活用
- 最先端技術の開発の先導的役割(装置、利用、データ)
- 若手・企業・異分野の研究者・技術者の育成・支援
- 広範囲の分野での利用促進、研究開発へ貢献
- 国内の関連産業技術の育成・発展への貢献
- 海外施設ネットワークとの連携

- EUの取り組み (Framework Program)
 - FP6: EU-NMR 12機関
 - FP7: Bio-NMR (構造生物学) 19機関 (72台)
 - EAST-NMR (東欧向け) 21機関 (19台)
 - e-NMR (データ・ソフトウェア) 5機関
 - 一体化した基盤 事業運用、課題選定 高い費用対効果
 - “Networking”, “Transnational”を重視
 - 装置開発製造企業も深く関与

NMR施設ネットワーク参加機関(案)

機関	共用の枠組
基幹拠点 (大型装置複数配置、特徴・得意分野、共用実績)	
理研横浜／横浜市大	先端研究施設共用促進
大阪大学蛋白質研究所	全国共同利用機関 先端研究施設共用促進
物質材料機構	ナノテクプラットフォーム
分子科学研究所	全国共同利用機関 ナノテクプラットフォーム
地域拠点 (地域の核、基幹拠点への橋渡し)	
北海道大学	—
東北大学	—
広島大学	先端研究施設共用促進
九州地区(調整中)	—



理研横浜NMR施設の経緯

- ・ 航空・電子等技術審議会から「構造生物学に関する総合的な研究開発の推進方策について」(1996年諮問第22号)に対して出された答申のなかで提言された“NMR構造生物学研究センター”を具現化する形で、わが国における構造生物学研究の中核的研究拠点として、約40台の高磁場装置を備えた世界最大規模のNMR施設として整備。
- ・ 理研においては、蛋白質基本構造解明研究の開始とSPring-8の稼働(1997年)、ゲノム科学総合研究センター(GSC)の設立(1998年)を経て、構造ゲノム科学研究が推進。2002年より国家プロジェクト「タンパク3000プロジェクト」の中で、タンパク質基本構造を解析することを目的として利用。
- ・ 2007年より我が国の研究技術基盤として、委託費「先端研究施設イノベーション創出事業」(後に「先端研究施設共用促進補助金」へ変更)の予算(・支援)をいただきながら、外部への利用促進を行い、更に大阪大学蛋白質研究所などの機関との連携も進め、新たな拠点整備、共同研究拡大の核となってきた。
- ・ 施設利用分野は、構造生物学から、ライフサイエンス、医薬分野だけではなく、食品・日用品、化学、材料・素材、分析分野へ広がっている。

- 施設外部利用の枠組みでの利用

	利用形態名	成果の取り扱い	課題選定委員会	その他条件
無償利用 (産業界・産官学連携事業限定)	トライアルユース	公開 (最大2年間延長可能)	審議の上採択	公募要領・誓約書を遵守 (利用期間半年以内)
有償利用	成果占有利用	非公開	関与せず	個別に利用条件検討
	成果非占有利用 (割引料金)	公開 (最大2年間延長可能)	審議の上採択 (早期実施希望の場合、個別審査有)	公募要領・誓約書を遵守

- 共同研究、受託研究の枠組みでの利用

NMR施設利用料金(H24年度)

		成果占有料金 (A料金)		成果非占有料金 (B料金)		
①発現確認(1回)		¥103,000		¥73,000		
②フォールド判定(1回)		¥114,000		¥84,000		
③大量調製(1回)		¥351,000		¥320,000		
④NMR測定	MHz	装備	週	日	週	日
	400	固体	¥312,000	¥63,000	¥85,000	¥17,000
		-	¥333,000	¥67,000	¥91,000	¥19,000
	600	高感度	¥665,000	¥113,000	¥181,000	¥37,000
		高感度・チェンジャー	¥931,000	¥187,000	¥253,000	¥51,000
	700	-	¥389,000	¥78,000	¥106,000	¥22,000
		高感度	¥778,000	¥156,000	¥211,000	¥43,000
		固体	¥545,000	¥109,000	¥148,000	¥30,000
	800	-	¥442,000	¥89,000	¥120,000	¥24,000
		高感度	¥884,000	¥177,000	¥240,000	¥48,000
	900	-	¥499,000	¥100,000	¥136,000	¥28,000
		高感度	¥997,000	¥200,000	¥271,000	¥55,000
	⑤構造決定(1回)		¥268,000		¥203,000	

成果公開型

企業（五十音順）37機関

旭硝子株式会社
 味の素(株)
 株式会社井田ラボラトリーズ
 株式会社エルエイシステムズ
 大塚製薬株式会社
 (財)沖縄科学技術振興センター
 オックスフォード・インストゥルメンツ(株)
 花王(株)
 キッセイ薬品工業株式会社
 株式会社 グライエンス
 株式会社サイエンステクノロジーインタラクト
 サンスター株式会社
 住友化学株式会社
 生化学工業株式会社
 仙味エクス株式会社
 大日本住友製薬(株)
 大陽日酸株式会社
 タグシクス・バイオ株式会社
 千葉製粉(株)
 株式会社ディーエイチシー
 株式会社東芝
 (株)東レリサーチセンター
 株式会社 豊田中央研究所
 日本ハム株式会社
 財団法人野口研究所

大学等（五十音順）22機関

大阪大学	筑波大学
神奈川大学	帝京平成大学
近畿大学	東京大学
京都大学	東京医科歯科大学
慶應義塾大学	東京農工大学
神戸大学	東北大学
静岡大学	奈良先端科学技術大学院大学
首都大学東京	広島大学
信州大学	福島県立医科大学
創価大学	明治大学
千葉工業大学	横浜市立大学

株式会社バイオベルデ
 株式会社白寿生科学研究所
 株式会社ビーエムジー
 株式会社ファルマデザイン
 富士フィルムエレクトロニクスマテリアルズ株式会社
 株式会社ブリヂストン
 株式会社プロテイン・エクスプレス
 北海道システム・サイエンス(株)
 株式会社三菱化学生命科学研究所
 室町ケミカル株式会社
 持田製薬(株)
 RECマテリアルズ(株)

世界の大規模NMR施設

地域	アジア	北米				欧州					中東
国	日本	米国	米国	米国	米国	イタリア	ドイツ	オランダ	フランス	ドイツ	サウジアラビア
施設名 (機関)	NMR基盤施設／NMR立体構造解析パイプライン(理化学研究所)	PNNL (Pacific Northwest National Laboratory)	NMRFAM (ウイスコンシン大学マディソン校)	NYSBC (New York Structural Biology Center)	NHMFL (National High Magnetic Field Laboratory)	CERM (フィレンツェ大学)	BMRZ (Center for Biomolecular Magnetic Resonance) (フランクフルト大学)	UU (ユトレヒト大学)	RALF-NMR (Rhône-Alpes Large Scale Facility for NMR) (リヨン大学)	FMP-NMR (Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie)	KAUST (King Abdullah University of Science and Technology)
NMR台数 >600MHz	23	6	8	8	10	8	11	5	8	7	5
最高性能装置	900MHz (高感度検出器付)	900MHz	900MHz (高感度検出器付)	900MHz (高感度検出器付)	1.7GHz (固体専用)	950MHz (高感度検出器付)	950MHz (高感度検出器付)	900MHz (高感度検出器付)	1GHz (高感度検出器付)	900MHz (高感度検出器付)	950MHz (高感度検出器付)
試料調製支援	有	無	無/有	有	無	無	有	無	無	無	
利用者制限	無	無	無	原則として機関関係者に限定	無	原則としてEU関係者に限定					不明
備考					1GHz以上の装置は独自開発	“Bio-NMR”(11機関72台), “EAST-NMR”(8機関19台)として広域に連携					
構成	270,300,400,500(2),500WB,600(8),700(4),800(8),900(3)	300WB(2),500,500WB(2),600(3),750,800,900	400,500(2),600(4),700,750,800,900	500,600,700,750WB,800(3),900(2)	500(2),500WB,600(2),700,750,900	400,500,600(2),700(2),700WB,800,850WB,900,950	400,400WB,500(2),600(4),600WB,700,800(2),850WB,900,950	360,500(2),500WB,600(2),700,750,900	500WB,600(3),700,800(2),800WB,1000	400WB(2),600(2),600WB,700WB,750,900	400,400WB(2),500,500WB,600,600WB,700,900WB,950