

補助事業番号 2021M-224

補助事業名 2021年度 操作性良く高感度測定ができる新型Rheo-NMR装置の開発補助事業 補助事業

補助事業者名 京都大学 大学院農学研究科 応用生命科学専攻 生体高分子化学分野 菅瀬謙治

1 研究の概要

NMRは、溶液中の分子の構造や運動性を原子レベルで解析できるパワフルなツールである。補助事業者は、過去に試料に流れを発生させながら測定できるRheo-NMR装置を開発し、同装置により、タンパク質の線維化過程をリアルタイムかつ原子レベルで解析できることなどを実証した。本事業では、より操作性良く高感度測定ができる新型Rheo-NMR装置を開発した。同装置はタンパク質科学・材料科学・創薬などの研究に貢献することが期待される。

2 研究の目的と背景

線維化するタンパク質(神経変性疾患に関連)の多くは神経細胞や血管を流れる。一般に細い管に流れがあると強い力が発生するため、補助事業者の菅瀬はこの流れの力が生体内でタンパク質を線維化させると考え、その研究のために2017年にRheo-NMR装置を開発した。同装置ではNMR管にガラス棒を挿入し、NMR管だけを窒素ガスで回転させることにより流れを発生させる。これまでに、タンパク質がまさに線維化していく過程を原子レベルで解析することに成功した[Morimoto, Anal Chem 2017]。また、線維化中のタンパク質と低分子との相互作用をリアルタイムに計測することもできた[Iwakawa, Int J Mol Sci 2017]。このような測定は他の装置ではできない、独自性の高いものである。同装置には国内外から多数の問い合わせがあり、その中には材料や創薬の企業も含まれる。これらは、当初、想定していたRheo-NMRの適用分野を超えたものである。そこで、菅瀬はこのRheo-NMRを普及させるべく、特許を取得し[特許第7255801号]、製品化[商標登録 μRheo-NMR]も行った。

しかし、現行装置は使用する際に注意すべき点が多いため、Rheo-NMRを本当に使えるツールとして普及させるためには、それらを改善する必要がある。具体的には、窒素ガスによる回転ではNMR管が振動し、感度が大幅に低下する。また、毎回の測定前にNMR管とガラス棒の中心を合わせる必要があるが(ずれがあるとデータの再現性が低下)、NMR管の内径が4.1mmに対してガラス棒の外径が3mmであるため極めて微妙な調整が求められる。しかも、NMR管とガラス棒はNMR磁石の中にあるため手探りで調製する必要がある。そこで、本事業ではこれらの問題を解決し、一般のNMRユーザーでも操作性良く使用できるRheo-NMR装置を開発することを目的とした。

3 研究内容

(1) 新型Rheo-NMR装置の開発研究

<https://tenko.kais.kyoto-u.ac.jp/research/>

製作した新型のRheo-NMR装置では、大きく分けてモーター部・サンプル部・ドライブシャフトの3つパーツから構成される(図1)。現行装置では窒素ガスでNMR管を回転させていたが、それよりも速くまたは遅く回転でき、かつより強いトルクのあるモーターをNMR磁石の上部に設置した。また、現行装置ではガラス棒とNMR管が別々の部品であるため、両者の中心を揃えることが非常に難しかった。そこで、新型Rheo-NMR装置では、ガラス棒とNMR管を一体化し、中心合わせの調整を不要とした。そして、モーターの回転をサンプル部にまで伝達するドライブシャフトを製作した。

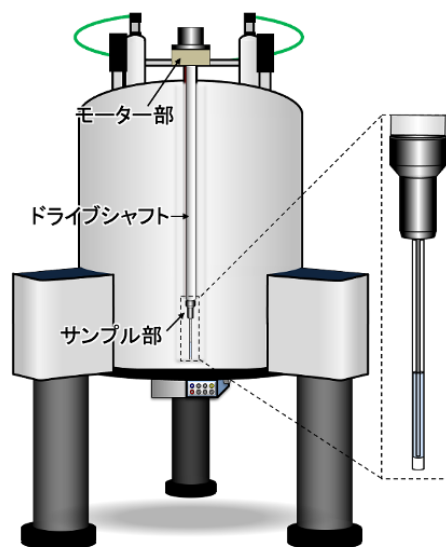


図1 開発中のRheo-NMR装置

このように基本となる設計は比較的シンプルであるが、モーターが発生する振動、モーターとドライブシャフトとの接続部で生じる振動、内径4.1mmのNMR管と外径3mmのガラス棒の中心を揃えることなどが克服すべき問題が数多くあったが、治具の形状や素材、装置製作の精度(10 μ mオーダー)などを最適化することによって全ての問題を解決することができた。このRheo-NMRは知財化と製品化をめざしており、これが達成された暁には、タンパク質科学・材料科学・創薬などの研究の進展に貢献することが期待される。

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本事業では生体内の流れを模倣し、その流れによってタンパク質に生じる変化を原子レベルで解析できる装置としてRheo-NMRを製作した。そのため、同装置を用いると、例えば流れによるタンパク質のアミロイド線維化(神経変性疾患に関連)機構の解明や、アミロイド線維化していくタンパク質と結合し、そのアミロイド線維化を抑制する薬の開発などに貢献できると期待される。また、流れは工業プロセスの至るところに存在する。例えば、バターは流れによって作られるため、その過程をRheo-NMRを用いて原子レベルで解析すれば、バターの美味しさを科学的に追求できることが期待される。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

補助事業者の菅瀬は、2015年にRheo-NMRの存在を知り、試料に流れを発生させながらNMR測定を行うという奇抜さに強い興味を持った。ただ、日本にはRheo-NMR装置がなかったため、2016年にドイツのドレスデンまで赴いて実際のRheo-NMR装置に触れた。当時、この装置を用いると、タンパク質科学に新しい展開をもたらすことができるという感覚を持った。しかし、既存のRheo-NMR装置をタンパク質に用いるには感度と分解能が十分でなかったため、菅瀬はタンパク質も解析できる新しいRheo-NMR装置の開発に取り組み、2017年に初号機、2020年に製品版を開発した。製品版はすでにイタリアとアメリカの研究者に購入してもらい、徐々にRheo-NMRによる

タンパク質の研究が世界に浸透している。この一方で、製品版では回転速度(流れの速度)の範囲が狭い、回転のトルク(流れの力)が弱い、操作性が悪い、という問題を抱えていた。よりRheo-NMR研究を広げるには、これらの問題を解決する必要があったため、本事業に取り組んだ。今回、極めて精密な設計・製作を行うことによって非常に良いRheo-NMR装置ができたため、この装置によってRheo-NMRユーザーがより増え、さらに解析対象がタンパク質以外のものに広がることが期待される。

また、菅瀬は現在、生体内の動的な環境がタンパク質に及ぼす影響を原子レベルで計測するという研究を行っており、この一環としてRheo-NMRを用いている。新たに開発したRheo-NMR装置であれば、既存の装置では再現できなかった非常に遅い細胞内の流れや非常に速い血流も再現できるため、菅瀬自身の研究の進展にも貢献する。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

開発した装置の知財化を検討中であるため公開を控えている。

7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

開発した装置の知財化を検討中であるため公開を控えている。

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

開発した装置の知財化を検討中であるため公開を控えている。

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 京都大学(キョウトダイガク)

住 所: 〒606-8502

京都市左京区北白川追分町 農学部総合館 N346

担 当 者: 教授 菅瀬謙治(スガセケンジ)

担 当 部 署: 大学院農学研究科(ダイガクイノウガクケンキュウカ)

E - m a i l: sugase.kenji.8c@kyoto-u.ac.jp

U R L: <https://tenko.kais.kyoto-u.ac.jp/>