

Title	生体物質の構造と機能の研究における超電導磁石高分解能核磁気共鳴装置の効用
Author(s)	京極, 好正
Citation	大阪大学低温センターだより. 1976, 14, p. 3-6
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/12243">https://hdl.handle.net/11094/12243</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

# 生体物質の構造と機能の研究における超電導磁石高分解能核磁気共鳴装置の効用

蛋白質研究所 京 極 好 正 (吹田 3826)

われわれが現在直接低温センターの御世話になるのは、液体窒素で冷却して固化した試料や相転移のある物質の赤外やラマンのスペクトルを測定して、相の状態の違いによる構造の変化を追跡するといった場合だけである。しかし、間接的には低温それも極低温ということの恩恵にあずかっており、それを利用した装置を身近に欲しいと願っている一人である。その装置というのは、ヘリウムで極低温に冷却して生じた超電導現象を利用した磁石を用いた装置で、超電導磁石の核磁気共鳴装置(NMR)である。現在この装置は欧米では4~50台普及して、どんどん成果が上げられているが、我国では京大工学部石油化学教室に一台あるのみで、きわめて貧弱な現況である。なぜわれわれのように生体物質の構造を研究している者がこの装置にこだわるかということを説明する前にNMRの原理を簡単に述べておかなばならない。

分子を構成している原子の核の中には磁気モーメント  $\mu_N$  を持つものがいく種かある。最も一般的な核は  $^1\text{H}$  であり、その他生体物質としては  $^{31}\text{P}$  が豊富であり、天然の存在比は少いがよく利用される核種としては  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  などがある。このような核を持つ分子を静磁場  $H_0$  の中におくと、

$$E = - \mu_{N,Z} \cdot H_0$$

というエネルギーを獲得するが、上記のような核の磁気モーメントの磁場方向の成分には  $\pm \frac{1}{2} \cdot \frac{h}{2\pi} \cdot \gamma_N$  の二つがあるので、エネルギーの準位としては  $\pm \frac{1}{2} \cdot \frac{h}{2\pi} \cdot \gamma_N \cdot H_0$  の二つに分裂したことになる。この現象を核ゼーマン効果と称するが、そこへ外部から電磁波  $\nu$  を照射すれば、 $h\nu$  の値が、エネルギー準位間の間隔  $\frac{h}{2\pi} \cdot \gamma_N \cdot H_0$  に等しいと共鳴が生じ、下の準位にあった核の一部は上の準位に上がるということがおこる。この際照射した電磁波の  $\nu$  を変えながらエネルギーの吸収の様子を記録したのがNMRスペクトルである。

$\nu_0 = \frac{1}{2\pi} (\gamma_N H_0)$  であるから、共鳴周波数は各核に固有の磁気回転比  $\gamma_N$  と、静磁場  $H_0$  によって変りうる。測定装置は静磁場は一定に保たれているので、同じ装置を用いても共鳴周波数は核種によって当然変わる。たとえば、 $H_0 = 23,500$  gauss の磁場で  $^1\text{H}$ (プロトン)は100 MHzで共鳴するが、 $^{13}\text{C}$ は25 MHz、 $^{15}\text{N}$ は10 MHzといった具合である。そういう時われわれは、この装置を磁場の強さでなく、 $^1\text{H}$ の共鳴周波数で100MHzの装置と呼ぶのが慣例である。 $\gamma_N$ は核種に固有だからたとえば $^1\text{H}$ をとってみるとどの分子の $^1\text{H}$ 核も同じ周波数で共鳴して吸収線は一本しか現れないように思われる。しかし実際には分子中の各 $^1\text{H}$ は、全く同じ環境にあるのではなくて、いろいろな隣接する原子と

結合したり、空間的に他の原子と接している様子が異なるので、それぞれの ${}^1\text{H}_i$  に到達する磁場は $H_0$  でなくて  $H_0(1-\sigma_i)$  のようにしゃへいされた磁場が到達している。したがって、分子中の化学的に環境の異なる ${}^1\text{H}$  はそれぞれ別の周波数 $\nu_i$  で共鳴することになる。もっともこの $\sigma_i$  は $2 \times 10^{-5}$  以下であるから、 $100\text{MHz}$  を中心にして $2\text{kHz}$  位の範囲に吸収線が分布することになる。

核磁気共鳴は原理的には固体でも液体、気体でも測定できるが、固体の場合は吸収線の巾が数百から数千 $\text{Hz}$  にもおよび、化学的な環境の異なる核種の区別は難しい。一方、液体や溶液中の分子量の小さい分子中の ${}^1\text{H}$  は数 $\text{Hz}$  の線巾の鋭い吸収線を示し、これらが近接する位置にある磁気モーメントを持つ核との相互作用で数 $\text{Hz}$  以下の分裂をしていることが認められる。このように固体と溶液のNMRではスペクトルの現れ方も全く違うので装置も同種のものでは使えず、固体用のものを広巾NMR装置、液体用のものを高分解能NMR装置という。私がとりあげているのは後者の方である。

高分解能の $100\text{MHz}$ 、すなわち $23500\text{gauss}$  程度の磁場を持つ装置は電磁石であるが、それ以上のもは超電導現象を利用した磁石の装置となっている。ただ強力な磁場を作るといっただけだと、そんなに難しいことではないだろう。しかし高分解能NMR装置の磁石では試料部分での $10^9$ の精度と数時間にわたって $10^9$ の安定性を要求されるために簡単なことではなくなる。すなわち、 $0.5\text{ml}$  位の試料部分で、 $0.1\text{Hz}$  の分解能が要求される。また微弱な試料ではシグナルが弱いため積算をして $S/N$ の向上をはかるが、その時は数時間にもおよび、その間共鳴周波数が相対的に $0.1\text{Hz}$  も動いてはいけないことになる。そのような装置はどこでもできるということはなく、世界的にも2~3のメーカーに限られている。

生物物質は普通の有機化学でとりあげる分子に比べると平均して分子量も大きく、構造的にも複雑な構造をとっていることが多い。したがってその分子中の ${}^1\text{H}$  もいろいろな $\nu_i$  で共鳴し、いくつかの共鳴線は重なってしまうことがしばしば起る。そのような時、もし $H_0$  が例えば2倍の強さ、すなわち共鳴周波数が $200\text{MHz}$  になったとすると、共鳴線の分布する範囲も $2000\text{Hz}$  から $4000\text{Hz}$  へと広がり、重なっていた共鳴線の分離もよくなる。どの位靈験あらたかかは、図1をみて戴ければわかるであろう。この図はアミノ酸が10個つながったチロシンという環状のペプチド抗生物質のスペクトルであるが、一番上は蛋白研の $100\text{MHz}$  の装置で、一番下は米国アクロン大の $300\text{MHz}$  装置で測定した場合である。このように顕著にシグナル線が分離して、はじめて、どのシグナルが、どの ${}^1\text{H}$  に由来するかを決めることができ、その後で構造上の議論ができるようになる。分離することは最終的な目的ではなく、われわれにとってはそこがスタートであるから、そのような装置を持たない場合は土俵に上れないことに等しい。

超高磁場の装置を用いるもう一つの利点に感度の問題がある。およそ生物物質を扱う場合、試料の絶対量が限られたり、溶解度の関係からごく少量の試料しか溶けない場合が多い。感度は磁場の二乗に比例するから $300\text{MHz}$  の装置を使う場合は、 $100\text{MHz}$  の装置を使う場合に比べておよそ一桁少ない試料の量で済むことになり、きわめて有利である。特に酵素を測定するような場合、 $10\text{mM}$  必要か、 $1\text{mM}$  でよいかということは実験が可能か否かの決定的なわかれ目になる。

さて土俵に上ることができたとしたらどのように勝負するか、それはより簡単な分子で $100\text{MHz}$  の

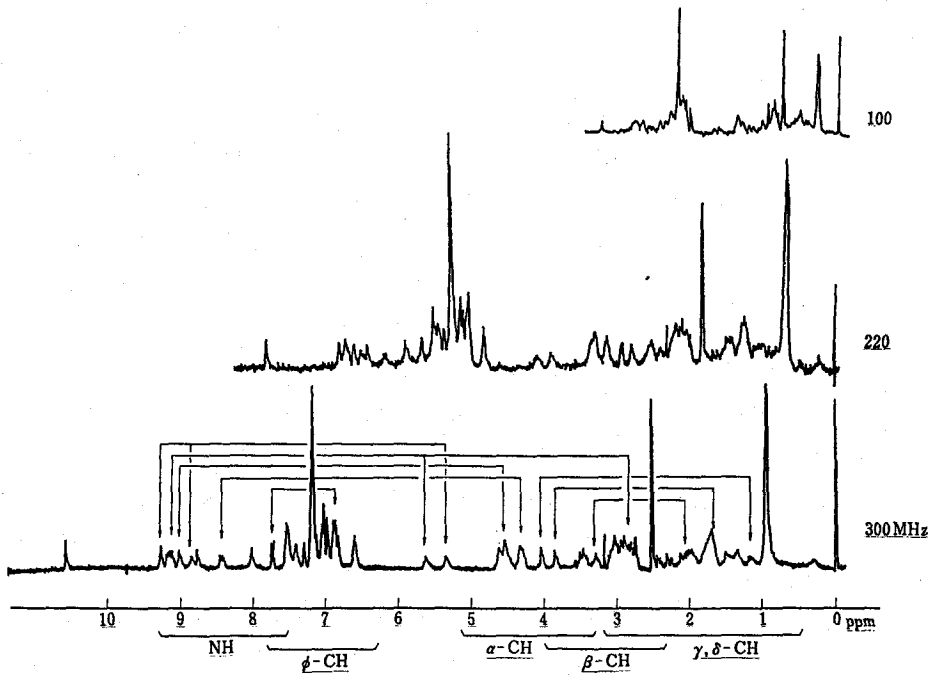


図1. チロシジンBのプロトン核磁気共鳴スペクトル

- 1) 阪大蛋白質研の100MHz 装置(電磁石)
- 2) 京大工学部石油化学教室の220MHz 装置
- 3) 米国アクロン大の300MHz 装置(超電導磁石)で測定したもの。

装置を用いて行い場合と原理的には変わらない。NMRのスペクトルから得られる情報は、1)各シグナルの位置、2)スペクトルの微細構造—スピン結合定数、3)緩和時間、といった量である。これらを解析すると、結果的には、i)溶液中の分子の構造、ii)相互作用する場所、iii)分子全体および、局所の動きやすさ、などについて知ることができる。生体分子の立体的な構造と機能を結びつける研究は、今まで主としてX線解析の結果を利用したものであった。特に1950~60年代にかけてはX線解析で明らかにされた蛋白、核酸の分子構造を基礎として生命現象を説明しようとする分子生物学の最盛時代であったといえよう。しかしX線解析にかかる試料は限られており、またそこで決められた構造も結晶中のものであり、本当に機能を発揮していると思われる状態、それはむしろ溶液状態に近く、そこで構造の方がより知りたいわけである。そのような目的には種々の分光学的手段が用いられてきたが、いま一つX線解析で得られる原子レベルの情報に匹敵する情報は得られていなかった。そのような手段の中で高

分解能NMRは部分的にもX線解析と対比できる情報を与える手段として注目されているわけである。さらに、単に静的な構造だけでなく時間を含んだ構造、すなわち、動的な構造に対する情報も得られ、そのことが機能と結びつくかも知れないという期待もある。

シグナルの分離、試料の量という二つの要素は生体物質を扱うような場合にのみ常につきまとう問題である。したがって、超電導磁石の装置を欲している人は従来のNMR専門の研究者よりも、生物物理や、生化学の研究者に多い。この種の装置は市販品としては、360MHzのものが最高であるが、その数台はいずれもStanford大、Bell研究所のそのような研究室に入っている。現在MITおよび、Carnegie-Mellon大学で600MHz(140KG)の装置の開発が進められていると聞く。我国では数年前、京大に220MHzの装置が設置されて以来、後続が無かったが、51年度には東大理学部生物化学教室に270MHzの装置が入ることになった。わが国の場合、米国に比べてヘリウムのコストが高いから、装置の継続運転には経費の問題がより深刻である。しかし低温センターと協力して回収のことをうまく考えれば、電磁石の維持のための電気や水道料とそんなに変わらない経費で行くのではないであろうか。われわれは現在京大の装置の御厄介になっているが、より超高磁場の装置が阪大で利用できるようになることを切望する次第である。

### 表 紙 写 真 説 明

光学測定用液体ヘリウム温度金属製クライオスタット(東理社製,  
A-751型多光軸)

試料に対して6本の光軸を有し、Heサブタンクを有することが特徴。従ってHe温度より200°Kまで直線的な温度上昇と任意温度に保つことが出来、X線照射(欠陥生成のため)や光吸収、ラヂオルミネッセンス、熱発光の測定に威力を発揮する。写真はX線照射中の様子を示したもので、照射後レールに沿って右側に移動し、分光器の試料部にセットされる。このクライオスタットを用いた研究内容はPhys. Rev. (B) 2月15日号(1976)に報告した。

工学部原子力工学科 岡田 東 一  
谷村 克 巳