

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：12608

研究種目：国際共同研究加速基金（帰国発展研究）

研究期間：2017～2021

課題番号：15K21772

研究課題名（和文）次世代の高磁場生体固体NMR法の開発とアミロイドとリガンド相互作用の構造生物学

研究課題名（英文）Development of next generation solid-state NMR methods and applications to amyloid-ligand interactions

研究代表者

石井 佳誉（Ishii, Yoshitaka）

東京工業大学・生命理工学院・教授

研究者番号：40799045

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 44,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、構造生物学の分野で進展が著しい固体NMRの次世代測定法開発とアミロイド構造生物学への応用を3つの課題を通して行った。NMR法の根本的問題である感度と分解能の問題を解決するため、(1) 超高速マジック角回転(MAS)法を使った微量生体試料観測のための固体NMR法と(2) 分解能向上のための高次元固体NMR法を開発した。(3)アルツハイマー病に関連したアミロイドとリガンド分子の相互作用の構造生物学の進展を図った。例えば茶由来カテキンEGCGと結合したアミロイドの構造が結合部位と想定される側鎖以外は大きく変化しないことが示唆された。本研究を通じ生体試料の固体NMRの大きな進展を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

課題(1)では、超高速MAS法を使った感度増加法を開発し、従来法では検出限界以下である数nmolの試料での測定を可能とすることを示せた。課題(2)では、構造の不均一性のため従来法では信号帰属が困難であった繊維状A₄₂アミロイドに対して、4次元固体NMRが2日程度で測定できることも示せた。この手法から得られる高分解能により、3次元固体NMRデータと併せてこの試料の信号の完全帰属と2次構造解析が可能となった。また課題(3)では、微量の抗体とタンパク質GB1の複合体試料から抗体の結合によりGB1の構造が大きく変化することを示した。抗体医薬等への応用も将来的に可能な技術と考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed the next-generation methodologies of solid-state NMR (SSNMR) and applied SSNMR to amyloid structural biology in the following three projects. In order to enhance sensitivity and resolution, the lack of which has been fundamental problems for NMR-based structural biology, we developed (1) SSNMR methods for observing trace biological samples using ultrafast magic-angle-spinning (MAS) method and (2) high-dimensional SSNMR for improving resolution. (3) We aimed to advance structural biology on the interactions between ligand molecules and amyloid proteins related to Alzheimer's disease. It was suggested that the structure of 42-residue amyloid beta fibrils bound to tea-derived catechin EGCG did not change significantly except for the side chains that could be the binding sites. Through this study, significant progress has been made in SSNMR of biological samples.

研究分野：固体NMR、構造生物学、アルツハイマー病

キーワード：固体NMR 構造生物学

1. 研究開始当初の背景

生体分子や先端生体材料に対する構造解析は、機能の解明、新規材料や薬剤の設計等に不可欠な役割を果たす。Magic Angle Spinning (MAS) 法を用いた高分解能固体 NMR は非結晶系や難溶性試料等の解析困難な生体試料や材料に対し、貴重な分子構造情報を提供する手法として広く使われてきた。特に最近ではアミロイドや膜タンパク質などのインパクトの高い系の構造解析の例が欧米を中心に多く示され、固体 NMR は構造生物学のボトルネックであるこれらのタンパク質を測定するための有力な手法となってきた。一方、NMR の限界となっている感度の問題は深刻であり、多次元の固体 NMR 実験では 0.3~1 μmol もの同位体ラベル試料を必要としていた。また、溶液の NMR のように分子量の上限はないものの、分解能の制限により信号を分解できる残基数は 100~150 程度である。この 2 つの理由で、固体 NMR を適用できる試料の種類は限られており、固体 NMR の感度と分解能の問題を大幅に改善する手法が研究開発の当初は待ち望まれていた。

研究代表者は構造生物学と物理化学の強いバックグラウンドを持って、固体 NMR 法の開発と応用を進めてきた。高速 MAS による独自の固体 NMR 手法とアミロイドタンパク質の構造研究の評価は特に高い。研究代表者は米国イリノイ大学シカゴ校より東京工業大学 (東工大) に移籍することが可能となり、2017 年 1 月より東工大に赴任した。東工大すずかけ台キャンパスの研究場所を確保し、本国際共同研究加速基金 (帰国発展研究) よりの研究資金を得て、装置の整備と研究人材のトレーニングを含む研究室立ち上げを進めると共に、研究の目的に記した固体 NMR 法の開発とその応用を行った。

2. 研究の目的

本研究では、構造生物学の分野で近年進展が著しい固体 NMR の次世代測定法開発とアミロイド構造生物学への応用を 3 つの課題を通して行った。まず、NMR 法の根本的問題である感度と分解能の問題を解決するため、(1) 超高速 MAS 法を使った微量生体試料観測のための固体 NMR 法と (2) 分解能向上のための高次元固体 NMR 法の開発を行う。課題(1)では、超高速 MAS 法を使った感度増加法を開発し、研究開始当時は検出限界以下であった数 nmol の試料での測定を可能とすることを目標とした。課題(2)では、解析が困難な 300 残基以上のタンパク質に対する信号帰属と構造測定法への対応を可能とすることを目指す。更に、(3) アルツハイマー病に関連したアミロイドとリガンド分子の相互作用の構造生物学を確立する。繊維状 A β 42 アミロイドなどのタンパク質と薬剤候補となる抗体や小分子リガンドとの結合部位とモードを固体 NMR を用いて調べる方法を確立することを目標とした。

3. 研究の方法

課題(1)では、研究代表者が考案した PACC 法と ^1H 観測法の両手法を超高速 MAS 法と組み合わせることで高感度を得る。PACC 法は常磁性試料をタンパク質試料にドープし、高速 MAS (>40 kHz) を用いて実験の繰り返しを通常の 20 倍まで早め、大幅な感度増加を得る方法である。通常のタンパク質や有機化合物の固体 NMR では ^{13}C や ^{15}N などの核が観測され、 ^1H 核の観測は ^1H - ^1H 双極子相互作用による線幅の広がりにより感度的なメリットがなかった。研究代表者は高速 MAS 法により ^1H - ^1H 双極子相互作用を除去することで、 ^1H 観測の感度が ^{13}C 観測の感度を大幅に上回ることを示している。ここでの要点は、超高速 MAS 法を軸に、各手法による感度増加の効果が干渉せず、積み重なるように実験を設計することである。これより、最終的な感度増加は複数の手法の感度増加率を掛け合わせたものになる。

課題(2)では、(1)で述べた超高速 MAS 法をベースに 4~5 次元 NMR への拡張を行う。PACC 法と ^1H 観測を組み合わせれば、通常の 1~2 次元 NMR 並みの速度で 3 次元固体 NMR が測定可能である。したがって、4D NMR で数時間、5D NMR でも 1 週間あれば測定が可能になるはずである。間接次元を Non-uniform sampling と呼ばれる方法により離散的に測定して、データを補間することで実験時間の短縮も図る。もう一つのアプローチとしてスペクトルを大幅に簡略化するための HIGHLIGHT 法という手法を用いることを提案した。高次元 NMR の信号帰属の開始点を確実に決めるための有力な方法となる。

課題(3)では、同位体ラベルしていない薬剤候補等の小分子や抗体をターゲットとして、リガンドとアミロイド等のタンパク質の相互作用を観測する。タンパク質側の構造変化は化学シフトの変化で検出可能である。また、リガンド分子の ^1H の信号が超高速 MAS で十分に分解していれば、均一ラベルしたアミロイドの側鎖の ^{13}C の信号との相関を超高速 MAS 法により観測する

ことも可能となる。

4. 研究成果

1 年目では課題(1、2)の研究に必要なモデルタンパク質(GB1)のバクテリアの培養とタンパク質精製のためのラボ設営と人員のトレーニングを主に行った。また微量試料の測定に最適化された固体 NMR プローブや高感度 NMR の整備も研究の一部として行った。

また課題(1)に関しては100kHz MASの条件では ^1H 観測により、通常の ^{13}C 観測と比較して感度は10倍になることを確認した。図1にスピニングスピードを変えた時の ^{13}C -labelしたL-alanineの ^1H MAS固体NMRスペクトルを示す。¹ (d) 90kHzのMASで得られたスペクトルでは大幅に分解能と感度が向上していることがわかる。例えば(a)20kHzのMASで得られたスペクトルに対して、8倍程度の感度増加が得られている。(e)では ^{13}C デカップリングを加えることで更に感度が上昇することが分かる

超高速の100 kHzのMAS条件下でPACC法と ^1H 観測を組み合わせ、27nmol (180 μg)のGB1 タンパク質に対して、わずか9秒で2次元 $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ 固体NMRが得られることを示した(図2)。世界初の秒単位で得られたタンパク質の2次元固体NMRになる。これは ^1H 観測による高感度とともに、NMR信号を所得に必要な繰り返し時間を通常の $\sim 1/30$ (100ms)にPACC法で圧縮できたことによって可能になった成果である。このデータより、2次元NMRであれば1~5 nmolレベルのタンパク質試料に対して数分から数時間の間で測定が可能であることを示した (Ishii, Y. *et al. J. Magn. Reson.* 2018, 286, 99.)¹。感度的にも世界最高レベルの感度が得られた。また、この発表論文は*J. Magn. Reson.* の表紙を飾り、Most downloaded awardを得た。課題(1)に関しては当初の目的を達成したため、2年目以降の本プロジェクトでは課題 (2, 3) を中心に行った。

課題(2)に関しては高次元固体 NMR 法の開発とアミロイドや膜タンパク質に対する応用を行った。従来の固体 NMR は2次元や3次元(3D)のNMR法が中心で、4次元(4D)固体NMRでは数日かかるため、現実的ではなかった。研究代表者のチームで開発したPACC法や ^1H 観測による高感度を組み合わせ、30nmol程度のGB1タンパク質に対して90kHz程度の超高速MASを用いて3D固体NMRでも数分で測定が終わることを示している。また、Non-uniform sampling (NUS) というデータ補間法を用いて4D固体NMRはわずか1時間程度で測定可能で、連鎖帰属のための様々な4D実験が短い時間で完了できることを示した。更に世界的にも困難であった5次元の固体NMRをモデル系であるGB1タンパク質に対して成功させており、現在論文投稿を準備中である。

アミロイドや膜タンパク等はほぼ単一の二次構造から形成される場合が多いため、信号が同じ位置に重なり通常のタンパク質よりも連鎖帰属が大幅に困難になる。研究代表者のラボで作成した均一 ^{13}C , ^{15}N ラベルしたA β 42フィブリルに対する初期の固体NMR測定では、構造の不均一性に起因するラインブロードニングと前述の信号の重なりのため6つのValの信号が重なり、比較的短いシークエンスにも関わらず固体NMRによる連鎖帰属が不可能だった。この問題に対してVal-reverseラベルしたA β 42に対しHIGHLIGHT 3D CaNH法でValの次の残基を選択的に観測できることを示している。これらの残基をスターティングポイントにして、上記で述べたPACC法を用いた ^1H 検出固体NMRと3Dと4D連鎖帰属法と組み合わせると均一 ^{13}C , ^{15}N ラベルしたA β 42試料に適用することで、Valを迂回しての連鎖帰属が可能となることを示した。現在中性のpHでインビトロ

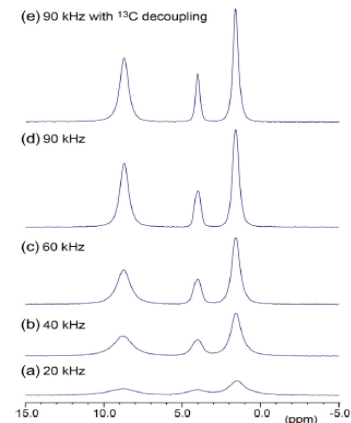


図 1. (a-d) Magic angle spinning (MAS) frequency (ν_R) dependence of ^1H spectra of uniformly ^{13}C - and ^{15}N -labeled L-alanine. The spinning frequencies are indicated in the figure. (e) ^1H MAS spectrum for the same sample collected at ν_R of 90 kHz with WALTZ-16 ^{13}C decoupling with a RF nutation frequency of 10 kHz.

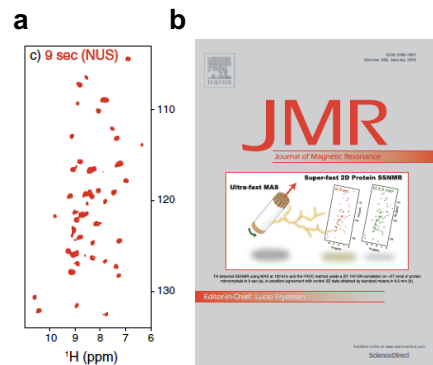


図 2. (a) A super-fast 2D $^{15}\text{N}/^1\text{H}$ spectrum collected (2 scans for each t1 point) at 100 kHz MAS with NUS at 50% random sampling rate for uniformly ^{13}C - and ^{15}N -labeled GB1 protein in a microcrystal sample ($\sim 180 \mu\text{g}$) with 20 mM Cu-EDTA. Recycle delay was set to 100 ms. (b) A cover page of the *J. Mag. Res.* showing our data.^{1,2}

で作製したA β 42フィブリルの構造は本質的に1種類しか見つかっておらず、共通した化学シフトを持つS字型の β シートモチーフをもつことが知られている。本研究では化学シフトが大きく異なる新規構造を持つA β 42フィブリルの存在を示す結果が得られた。

連鎖帰属のための3D固体NMRを図3aに示す。これにより、ほとんどの主鎖の ^{13}C , ^{15}N , ^1H 信号 ($^{13}\text{C}_\alpha$ 86%, ^{15}N 76%, ^{13}CO 71%, $^1\text{H}_\alpha$ 85% of, $^1\text{H}_\text{N}$ 76%)と50%を超える側鎖の ^{13}C と ^1H を帰属した(^{13}C 69%, ^1H 54% 図3b)。特にアミロイドタンパク質では通常観測されるアミド基の ^1H よりも $^1\text{H}_\alpha$ の信号の分散が大きいことを利用して、隣接するアミノ酸の $^{13}\text{C}_\alpha$ を観測して $^1\text{H}_\alpha$ の信号を検出する3D CA(NCO)CAH法が非常に強力であることを示している。構造が均一なアミロイド繊維であれば200~300残基の信号を分解できる分解能を得ている。得られた帰属より2次構造を決定できた(図4)。なお、信号が重なり合った多次元固体NMRスペクトルの解析は非常に難しいが、機械学習を用いたプログラムを用いて2週間程度で自動帰属による帰属が可能であることを示している。世界初の ^1H 観測固体NMRを用いた構造未知のアミロイド繊維に対する完全帰属の結果となる。本成果は化学の分野での一流誌である*J. Am. Chem. Soc.*に掲載された(Wickramasinghe, A. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 11462.)²

さらに、上記で提案した実験をアミロイド中間体で行うためにSPAと呼ばれるアミロイドの中間体試料も作成した(Xiao, Y. *et al. J. Biol. Chem.* **2020**, *295*, 458. 図5)。³今後も ^1H 観測を使った信号の帰属と構造決定に進めていく予定である。また、バクテリア由来の膜タンパク質であるaquaporin-Z(分子量28kDa)に対する3D-4D固体NMR測定も進めた。この試料に関しては試料作製の最適化が必要な状態であるが、比較的良好な分解能を示す予備的結果を得ている。構造均一性の良い200~300残基前後の膜タンパク質に対して今後十分な分解能が得られる見込みがあった。このように課題(2)についても概ね当初の目的を達成した。

また関連した結果として、 $^1\text{H}_\alpha$ や側鎖の ^1H 信号を検出する際の妨げとなる溶媒の ^1H 信号を効率良く除去するための新しい方法であるSLAP法を本研究資金で整備した装置を用いて開発した。⁵同様に、 ^1H 核から ^{13}C 核への磁化移動に用いられるCross polarization(CP)における信号のロスを最小減にするDecoherence-optimized tilted-axis (DOTA) CP法を開発した。⁴多次元固体NMRでの感度の減少である最大の原因は磁化移動における信号のロスであるためこの問題を解決するための強力なツールとなり得る。

課題(3)に関しては抗体試料と標的タンパク質との複合体形成のモデル系としてIgGに特異的に結合するGB1タンパク質とIgGの複合体(~600 μg)を用いて、 ^1H 観測固体NMR実験を行った。分解能を向上するために別プログラムの研究で開発中の側鎖選択的重水素化を行ったGB1を用いた。この試料では分解能と感度が1.5~2倍程度増加することが確認できた。上記で述べたPACC法と ^1H 検出固体NMRを用いて、わずか4 nmolのIgGに結合したGB1(複合体の分子量~160kDa)の2D $^1\text{H}/^{13}\text{C}_\alpha$ 固体NMRスペクトルを数時間で得た。化学シフトの変化から抗体の結合によりGB1の全体構造が大きく変化することを確認できた。(論文投稿準備中)。

溶液のNMRでは分子量の大きな系の場合には分解能が大幅に下がるが、固体NMRを利用したこの場合には複合体の沈殿物であるにもかかわらずマイクロ結晶のGB1とほぼ同等の分解能を得ることができた。

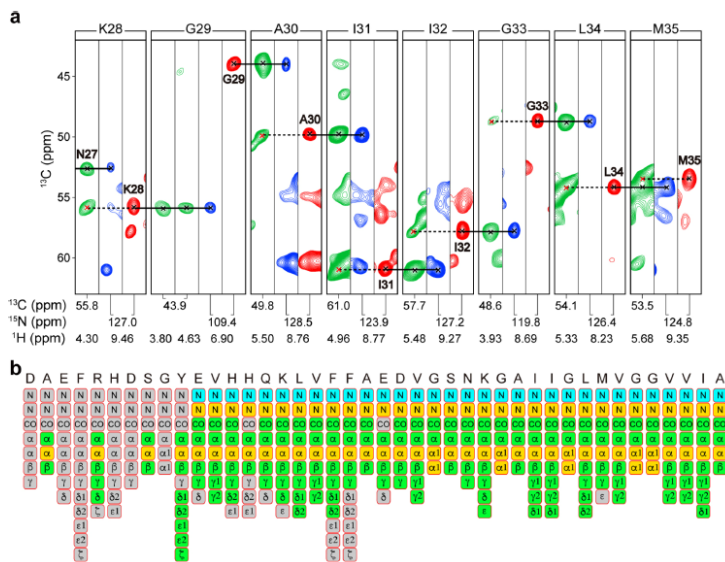


図 3. (a) Representative strip plots of (H)CA(CON)CAH (green), (H)CANH (red), and (H)CA(CO)NH (blue) 3D spectra, showing the sequential connectivity from Asn-27 to Met-35. Diagonal peaks corresponding to intra-residue magnetization transfer in the (H)CA(CON)CAH 3D spectrum are marked with red crosses. (b) Graphical representation of successful chemical shift assignments for ^{13}C (green), ^{15}N (blue), and ^1H (yellow) resonances in this study. Side-chain ^1H and ^{15}N are omitted. Gray squares denote unassigned resonances.

更に、アミロイドに関しても、アミロイドの凝集を妨げる効果があるカテキンである EGCG と A β 42 フィブリルの complex に対して実験を行った。当初予定していた ^2H 、 ^{13}C ラベルした A β 試料の収量が低いため、ペプチド合成で作成した選択 ^{13}C ラベルした A β 試料を用いた。化学シフトの観測により、EGCG の結合はアミロイドフィブリルに結合するが基本的に A β 42 の構造は変化せず、結合サイトと思われる疎水的なアミノ酸の側鎖の信号のケミカルシフトのみが変化していることを ^{13}C 観測と ^1H 観測の固体 NMR により確認した。この結果についても論文化を進めている。

結論として、課題(1-2)に関しては目標を達成し、アミロイドや抗体試料、膜タンパク質などに対して固体 NMR 方の大きな進展を得ることができた。課題(1)に関しては様々な系に対する応用も示しており、目標を上回る成果となっている。課題(2)に関しては構造が不均一な試料に対しての課題が残るが、本研究で開発した ^1H 観測を用いた 4~5 次元固体 NMR を更に発展させることで構造が不均一なアミロイドや膜タンパクなどの応用にも問題解決が進むと考えられる。課題(3)についても概ね目標を達成している。リガンドと複合体の相対配置の特定を行う必要があるが、今後の応用に期待が持てる。コロナウイルス感染症による影響もあり論文出版は若干遅れているが、研究室立ち上げも無事完了し、東工大において毎年 3~5 人程度の学士・修士学生を先端の環境でトレーニングする体制が構築できた。また、24 の学会発表(招待講演 15, 国際学会 13)の他に、大学のプログラムを通して高校生に対しても本研究で行った研究を紹介する機会を持てた。本国際共同研究加速基金によるサポートに感謝したい。

引用文献

本研究から生じた論文:

- (1) Ishii, Y. *et al. J. Magn. Reson.* **2018**, *286*, 99.
- (2) Wickramasinghe, A. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 11462.
- (3) Xiao, Y.; Matsuda, I.; Inoue, M.; Sasahara, T.; Hoshi, M.; Ishii, Y. *J. Biol. Chem.* **2020**, *295*, 458.
- (4) Matsunaga, T.; Matsuda, I.; Yamazaki, T.; Ishii, Y. *J. Magn. Reson.* **2021**, *322*, 106857.
- (5) Matsunaga, T.; Okabe, R.; Ishii, Y. *J. Biomol. NMR* **2021**, *75*, 365.

その他の参考文献:

- (6) Shen, Y.; Bax, A. *Journal of Biomolecular Nmr* **2013**, *56*, 227.
- (7) Xiao, Y. *et al. Nature Structural & Molecular Biology* **2015**, *22*, 499.
- (8) Colvin, M. T. *et al. Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138*, 9663.
- (9) Colvin, M. T.; Silvers, R.; Frohm, B.; Su, Y.; Linse, S.; Griffin, R. G. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137*, 7509.
- (10) Ravotti, F.; Wälti, M. A.; Güntert, P.; Riek, R.; Böckmann, A.; Meier, B. H. *Biomolecular NMR Assignments* **2016**, *10*, 269.
- (11) Gremer, L. *et al. Science* **2017**, *358*, 116.

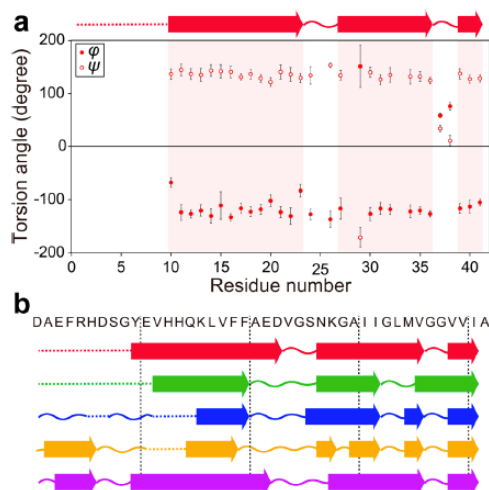


図 4. (a) Torsion angles of A β 42 fibril obtained from TALOS-N analysis.^{2,6} Predicted β -strands are shown as arrows on the top of the figure. (b) Comparison of the locations of the β -strands obtained in this study with those of previously reported A β 42 fibrils. Red arrows represent β -strands predicted in this study. Green, blue, orange, and purple arrows correspond to the β -strands reported by Xiao et al.,⁷ Colvin et al.,^{8,9} Ravotti et al.,¹⁰ and Gremer et al.,¹¹ respectively. Curved lines represent non- β -strand regions. Dotted lines represent the regions where there are no predicted secondary structures due to the lack of SSNMR data.

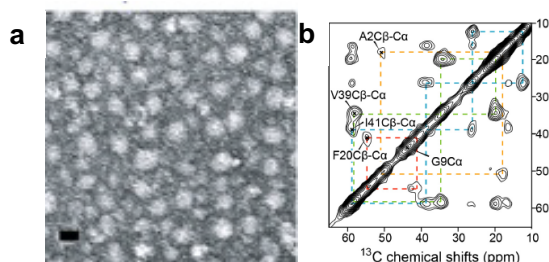


図 5. (a) TEM image and (b) Two-dimensional (2D) ^{13}C SSNMR chemical shift correlation spectra of SPA. The size of the bar in (a) is 20 nm.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Wickramasinghe Ayesha, Xiao Yiling, Kobayashi Naohiro, Wang Songlin, Scherpelz Kathryn P., Yamazaki Toshio, Meredith Stephen C., Ishii Yoshitaka	4. 巻 143
2. 論文標題 Sensitivity-Enhanced Solid-State NMR Detection of Structural Differences and Unique Polymorphs in Pico- to Nanomolar Amounts of Brain-Derived and Synthetic 42-Residue Amyloid- Fibrils	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 11462 ~ 11472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c03346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Matsunaga Tatsuya, Okabe Ryotaro, Ishii Yoshitaka	4. 巻 75
2. 論文標題 Efficient solvent suppression with adiabatic inversion for 1H-detected solid-state NMR	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biomolecular NMR	6. 最初と最後の頁 365 ~ 370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10858-021-00384-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Xiao Yiling, Matsuda Isamu, Inoue Masafumi, Sasahara Tomoya, Hoshi Minako, Ishii Yoshitaka	4. 巻 295
2. 論文標題 NMR-based site-resolved profiling of -amyloid misfolding reveals structural transitions from pathologically relevant spherical oligomer to fibril	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 458 ~ 467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008522	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Matsunaga Tatsuya, Matsuda Isamu, Yamazaki Toshio, Ishii Yoshitaka	4. 巻 322
2. 論文標題 Decoherence optimized tilted-angle cross polarization: A novel concept for sensitivity-enhanced solid-state NMR using ultra-fast magic angle spinning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Magnetic Resonance	6. 最初と最後の頁 106857 ~ 106857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmr.2020.106857	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishii Yoshitaka, Wickramasinghe Ayesha, Matsuda Isamu, Endo Yuki, Ishii Yuji, Nishiyama Yusuke, Nemoto Takahiro, Kamihara Takayuki	4. 巻 286
2. 論文標題 Progress in proton-detected solid-state NMR (SSNMR): Super-fast 2D SSNMR collection for nano-mole-scale proteins	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Magnetic Resonance	6. 最初と最後の頁 99 ~ 109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmr.2017.11.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計24件 (うち招待講演 13件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 Ishii, Yoshitaka
2. 発表標題 Progress in Sensitivity-Enhanced Protein Solid-state NMR using Ultra-fast MAS and Revealing Novel Polymorphs for 42-residue Amyloid- β and other systems
3. 学会等名 ISMAR-APNMR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishii, Yoshitaka
2. 発表標題 Sensitivity-enhanced protein solid-state NMR using ultra-fast MAS and structural studies of misfolded Alzheimer's amyloid-
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishii, Yoshitaka
2. 発表標題 Progress in protein solid-state NMR: applications to amyloid beta fibrils and other systems
3. 学会等名 分子化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsunaga, Tatsuya Nakata, Kenta Matsuda, Isamu Yamazaki, Toshio Ishii, Yoshitaka
2. 発表標題 Development and Application of a High-Sensitivity Cross Polarization Scheme on Ultra-fast Magic Angle Spinning, Decoherence Optimized Tilted-Angle Cross Polarization
3. 学会等名 ISMAR-APNMR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsunaga, Tatsuya Okabe, Ryotaro Ishii, Yoshitaka
2. 発表標題 Theoretical explanation of new solvent suppression scheme with adiabatic pulse and application for solid-state NMR experiments
3. 学会等名 ISMAR-APNMR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Terami, Hibiki Shigemitsu, Yoshiki Miyazaki, Yuki Yamazaki, Toshio Matsunaga, Tatsuya Ishii, Yoshitaka
2. 発表標題 Side-chain selective deuteration of proteins for solid-state NMR analysis
3. 学会等名 ISMAR-APNMR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishii. Y
2. 発表標題 Innovation in Protein SSNMR using Ultra-fast MAS and New Polymorphs of Alzheimer 's Amyloid-beta
3. 学会等名 ICMRBS Web Seminar (Web conference) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1 . 発表者名 Matsunaga, T., Takahashi, R. ; Ishii, Y.
2 . 発表標題 Development of high efficient ¹³ C- ¹³ C and ¹³ C- ¹ H magnetization transfer with band-selective CP on Ultrafast MAS
3 . 学会等名 The 59th Annual Meeting of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan,
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 Wickramasinghe, A. ; Xiao, Y. ; Kobayashi, N. ; Yamazaki, T. ; Ishii, Y.
2 . 発表標題 Structural Differences and Novel Polymorphs of Synthetic and Brain-derived A _β 42 Fibrils by ¹ H-detected SSNMR
3 . 学会等名 The 59th Annual Meeting of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 Fujita, K. ; Matsuda, I. ; Ishii, Y.
2 . 発表標題 Detection of structural changes by adding EGCG to A _β (1-42) fibrils using solid-state NMR
3 . 学会等名 The 59th Annual Meeting of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 Ishii, Y. ; Kamihara, T. ; Matsuda, I. ; & Xiao, Y.
2 . 発表標題 Breaking Sensitivity Boundary for High-Dimensional Protein SSNMR using Ultra-fast MAS and Structural Studies of Alzheimer ' s Amyloid-beta
3 . 学会等名 EUROISMAR 2019 (Berlin, Germany) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Ishii, Y.
2 . 発表標題 Solid-state NMR Studies of Amyloid Fibrils and Oligomers
3 . 学会等名 5th Polish-Korean Conference on Protein Folding - Theoretical and Experimental Approaches (Soeul, Korea) (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Ishii, Y.
2 . 発表標題 “ Innovations ” by High-speed-MAS SSNMR
3 . 学会等名 ISMAR Conversation on “ High-Speed Magic-Angle Spinning : What are the Advantages and Limitations? ” (On-line international meeting) (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Protein Solid-state NMR using Ultra-fast MAS and Structural Studies of Alzheimer ' s Amyloid-beta
2 . 発表標題 Ishii, Y.
3 . 学会等名 3rd Chinese Biomolecular NMR Meeting (Wuhan, China) (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Ishii, Y. ; Xiao, Y. ; Yoo, B. ; Matsuda, I. ; McElheny, D.
2 . 発表標題 Unexpected Prion-like Cross Talk between Abeta42 and Abeta40 studied by solid-state NMR
3 . 学会等名 The 58-th Annual Meeting of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan (Kanagawa, Japan)
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishii, Y.
2. 発表標題 Sensitivity-Enhanced Protein Solid-state NMR using Ultra-fast MAS and Structural Studies of Alzheimer ' s Amyloid-
3. 学会等名 2nd India-Japan Workshop on Magnetic Resonance (Hyderabad, India) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishii, Y.
2. 発表標題 Innovations by High-Speed MAS SSNMR and SSNMR Studies of Misfolded Amyloid-
3. 学会等名 Emerging Methodologies for Paramagnetic NMR and Dynamic Nuclear Polarization in Biological and Inorganic Materials (Telluride, CO, USA) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ishii, Y.
2. 発表標題 Prion-like propagation and structural conversion of Alzheimer ' s amyloid- : solid-state NMR studies
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石井佳誉
2. 発表標題 Recent progress of high-resolution solid-state NMR: Applications to misfolded amyloid-beta proteins and graphene-based systems
3. 学会等名 理研シンポジウム 「第19回分析・解析技術と化学の最先端」 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ishii, Y.
2. 発表標題 Solid-state NMR Studies of Graphene-based Systems and Nano-mole-scale Protein Solid-state NMR using Ultra-fast MAS
3. 学会等名 Experimental NMR conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石井佳誉
2. 発表標題 Biomolecular solid-state NMR: recent advances & applications to amyloid protein
3. 学会等名 日本分光学会NMR分光部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Solid-state NMR (SSNMR) studies of graphene-based systems and nano-mole-scale protein SSNMR using ultra-fast MAS
2. 発表標題 石井佳誉
3. 学会等名 ACS National Meeting
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ishii, Y.
2. 発表標題 Solid-state NMR (SSNMR) Studies of Misfolded -Amyloid Assemblies and Graphen-based Nanomaterials
3. 学会等名 University of Wisconsin at Madison Chemistry Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石井佳誉
2. 発表標題 High field protein solid-state NMR: Its Past, Present, and Prospects
3. 学会等名 理研 NMRプラットフォーム Workshop (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	星 美奈子 (Hoshi Minako)		
研究協力者	神原 孝之 (Kamihara Takayuki)		
研究協力者	松永 達也 (Tatsuya Matsunaga)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	イリノイ大	シカゴ大	
米国	イリノイ大		
インド	TIFR Hyderabad		