ポストゲノム研究で活用される超伝導 NMR —タンパク質の立体構造解析—

前田 秀明^{*1,*2}, 伊藤 隆^{*1,*2}, 横山 茂之^{*1,*3}

^{*1} 理化学研究所ゲノム科学総合研究センター 横浜市鶴見区末広町 1-7-22

^{*2} 横浜市立大学総合理科学研究科 横浜市鶴見区末広町 1-7-29

^{*3} 東京大学大学院理学系研究科 東京都文京区本郷 7-3-1

(2001 年 12 月 8 日受理)

Application of Superconducting NMR for Protein Structure Determination

Hideaki MAEDA,^{*1,*2} Yutaka ITO^{*1,*2} and Shigeyuki YOKOYAMA^{*1,*3}

^{*1} RIKEN Genomic Sciences Center, 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi, Yokohama 230-0045

^{*2} Graduate School of Integrated Science, Yokohama City University, 1-7-29 Suehiro-cho, Tsurumi, Yokohama 230-0045

^{*3} Graduate School of Science, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033

(Received December 8, 2001)

Synopsis: Determination of the three-dimensional structures of proteins is one of the key postgenomic research subjects. X-ray crystallography and solution NMR are both used for structural determination; the present paper reviews the process of protein structural determination by NMR. The NMR facility of RIKEN Genomic Sciences Center, constructed in Yokohama in 2000, and the “structural genomics project” being pursued using the NMR facility are briefly described.

Keywords : protein structure, NMR, superconducting magnet, high magnetic field

1. まえがき

ヒトゲノムの塩基配列の全体像が明らかになるにつれて、ゲノム情報の具体的な発現であるたんぱく質の立体構造・機能の研究が注目され始めている。タンパク質は3次元の立体構造を持ち、タンパク質同士や、タンパク質と核酸・脂質・糖・低分子などとの相互作用を通じて幅広い生命活動が営まれている。タンパク質の多様な活性は、その立体構造の多様性によっている。それゆえ、疾病に関与するタンパク質の立体構造を決定し、疾病発症に至るメカニズムを解明できれば、革新的な創薬への道が開ける。この様な観点から、ポストゲノム研究の中心として、タンパク質の立体構造決定に向けた国際的な競争が始まっている。

タンパク質の立体構造の解析法には、X線結晶構造解析およびNMR法がある。X線結晶構造解析では、対象にできるタンパク質の分子量の限界がほ

とんどない反面、解析に必要な高品位結晶を得るのが必ずしも容易ではない。一方、NMR法は、生体と同じ水溶液状態での構造解析が可能である反面、分子量が大きいとNMRシグナルが広幅化して感度や分解能が低下する欠点がある。この為、NMR法ではこれまで分子量3万～4万のタンパク質が限界であった。最近、Wüthrich等によりTROSYという新しい計測法が提案され、10万以上の分子量をもつ大きなタンパク質のNMR計測が可能になりつつある¹⁾。X線による結晶構造解析法とNMRを用いた構造解析法は互いに相補的な関係にあるので、両者を併用することで、効率的な立体構造決定が可能になる。ちなみに、タンパク質立体構造の国際的な登録機関であるProtein Data Bank (PDB) には、2002年1月現在で17,150のタンパク質の立体構造が登録されているが、X線法による決定が14,169、NMR法による決定が2,614となっている²⁾。

本解説では、タンパク質の立体構造解析に用いら

れる高磁場 NMR 装置と、それを用いたタンパク質立体構造解析法を紹介する。最後に、タンパク質構造解析の加速をめざして 2000 年に建設された、理化学研究所ゲノム科学総合研究センターの NMR 施設と、それを利用して行われているタンパク質研究、「構造ゲノム科学」プロジェクト³⁾についても紹介する。

2. 高磁場 NMR 装置

2.1 NMR 装置の構成

NMR 装置の構成を Fig. 1 に示す。超伝導マグネットの常温ボア (約 55 mm) に、RF 送受信用のプローブを取り付ける。プローブボアに、タンパク質水溶液を封入したガラスチューブ (直径約 5 mm) を収める。超伝導マグネットは、多次元 NMR などの長時間計測 (数十時間) に耐えられる磁場安定度と、 $0.5 \text{ Hz} (10^{-9})$ のスペクトル分解能を得るのに十分な磁場均一度を持つ。磁場の安定度を維持するために、溶媒に混入した ^2H の NMR 信号を常に監視し、設定値からの周波数のずれを補正する (ロック機構)。磁場安定度は、マグネット単体で 10 Hz/h 、周波数ロック時で 0.1 Hz/h である。磁場均一度は、超伝導シムコイルと、30~40 組の常温シムコイルで調整する。磁場が均一になるほど NMR の吸収ピークが高くなるので、ロック信号を見ながら、シムコイルで均一度を調整する。コンソールは、パルスシーケンスに応じた周波数と時間幅を持つラジオ波パルスを生成・増幅して、プローブに送る。サ

Fig. 1 High-field NMR system.

ンプルから受信した自由誘導減衰 (Free Induction Decay, FID) 信号から基本ラジオ波成分を取り除いた後、デジタル化処理を加える。最近ではスペクトロメータで FID の測定まで行い、フーリエ変換を含むデータ処理は別のワークステーションで行うことが多い。

2.2 超伝導マグネット

NMR 感度 ($=S/N$) とスペクトル分解能は磁場と共に向上するので、タンパク質の NMR 計測では高磁場 NMR 装置が利用される。NMR シグナルは、横緩和という過程を経て減衰するが、分子量の小さなタンパク質ではこの緩和過程が比較的ゆっくりであるために、シャープなシグナルを得ることができる。一方、大きなタンパク質では緩和過程が早いために、得られるシグナルが幅広で弱い。このため、従来は NMR 法で測定できるタンパク質は分子量 3 万~4 万以下に限られていた。最近、Wüthrich らによって、TROSY と呼ばれるパルスシーケンスが開発された¹⁾。横緩和には、周囲の磁気双極子が作る変動磁場と、化学シフトの異方性による変動磁場が寄与するが、1 GHz (23.5 T) の高磁場で TROSY を用いると、両者の寄与が相殺されたシャープなピーク成分だけを抜き出すことができる。TROSY は、最近のタンパク質研究における NMR 装置の高磁場化の流れを加速している。

普及している製品のうちで、最高の磁場を持つのは、800 MHz 装置 (18.8 T) である。高磁場を得るために、2 K まで温度を下げて運転することが多い。2 K 運転によりマグネットの電流マージンが大きくなり、磁場安定度も向上する。既に、800 MHz の磁気シールドタイプも完成している。

さらに高磁場の 900 MHz 装置 (21.2 T) は、メーカーでの試作が完了し、製品出荷が開始されたところである。昨年 6 月に Bruker 社から製品 1 号機が米国 Scripps Research Institute に納入された。Varian 社の 1, 2 号機も、横浜市立大学と理化学研究所ゲノム科学総合研究センターに納入されることになっている。900 MHz 装置 (21.2 T) では、たとえ 2 K に冷却しても既存の超伝導線材ではギリギリの電流密度であり、十分なマージンを得るのが難しい。この結果、線材特性が少しでも劣化すると、磁場安定度が悪くなる。この意味で、900 MHz 装置は、製品としてはまだ課題がある。

開発レベルでは、国家プロジェクトで、TROSY

の最適条件を満たす 1 GHz 装置 (23.5 T) の開発が進められている。ドイツでは, FZK, Bruker 社, VAC 社が政府の補助金で 1 GHz NMR 装置の検討を進めており, 米国フロリダの国立強磁場研究所も, 独自に 1 GHz NMR 装置の開発を進めている。我が国では物質・材料研究機構が, マルチコアプロジェクトの一環として 1 GHz NMR 用超伝導マグネットを開発しており, 線材とマグネットの開発で世界をリードしている。同研究機構が開発した 920 MHz NMR マグネットは, 現在, 世界最高の磁場をもつ NMR マグネットである⁴⁾。理化学研究所では, このマグネットを用いたタンパク質の立体構造解析を計画している。

2.3 プローブ

タンパク質は, NMR で観測可能な安定同位体 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ で標識することが多い。溶液タンパク質の NMR 計測では, 3 重共鳴プローブを用いる。このプローブでは, ^1H のスピンを 90° パルスで倒した後, $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ に分極を移し, 最後に ^1H に戻って NMR 信号を計測する。得られた ^1H の信号には, $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ の情報が含まれている。溶媒である水のピーク消去と, 分極移動を利用したスペクトル編集のために, プローブにはパルス傾斜磁場コイルを設ける。

最近, RF 送受信コイルを 20 K に冷却して Q 値を上げ, プリアンプを冷却して熱ノイズを低減して, NMR 感度を従来比 3~4 倍に向上させた極低温プローブが開発された。小型極低温冷凍機で冷やしたヘリウムガスで冷却する (Fig. 2⁵⁾)。感度向上により計測時間が短縮できるだけでなく, サンプル濃度も低くできるので, 発現量の少ないタンパク質の計測が可能になる。この意味で, タンパク質研究に与えるインパクトは大きい。既に, 600 MHz まで製品化されている。RF コイルとして常電導体が用いられる場合と, イットリウム系高温超伝導薄膜が用いられる場合がある。

2.4 多次元パルスシーケンス

タンパク質の NMR 計測では異核種多次元 NMR を用いる。これは, パルス傾斜磁場コイルを併用しながら, 複数のチャンネルから複数の核種の RF パルスを加え, ^1H の FID を取るものである。化学シフトによる展開時間を系統的に変えながら数 100 から数万の FID 信号を測定し, これを多次元フーリエ変換して多次元 NMR スペクトルを得る。

現在, 100 種類以上の多次元 NMR パルスシー

Fig. 2 Cryogenic probe developed by Bruker. RF coil and preamplifier are both cooled by circulated low-temperature He gas.⁵⁾

クエンスがあるが, タンパク質の構造解析に用いられるものとしては, TOCSY 法 (^1H 原子間のスピン結合情報を与える) や NOESY 法 (核オーバーハウザー効果, ^1H 原子間の距離情報) のような ^1H - ^1H の 2 次元 NMR 法, HSQC 法 (^1H と ^{13}C や ^{15}N のスピン結合情報) のような ^1H -X の 2 次元 NMR 法, HNCA (主鎖アミドプロトン, 主鎖アミド窒素と主鎖 α 炭素のスピン結合情報) や HNCQ (主鎖アミドプロトン, 主鎖アミド窒素と主鎖カルボニル炭素のスピン結合情報) のような 3 重共鳴 3 次元 NMR などがある。

3. NMR によるタンパク質の構造解析

最近の NMR 解析では, タンパク質を $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 核で標識し, 3 重共鳴 NMR を用いて解析するのが一般的である。3 重共鳴 NMR は,

- (1) 主鎖 $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ シグナルの帰属 (どのアミノ酸残基に属するかを決める) のための測定法,
- (2) 側鎖 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ シグナルの帰属のための測定法,
- (3) ^1H 同士の距離情報を得るための NOE 測定法,
- (4) その他 (スピン・スピンカップリング定数や, 残余双極子カップリング観測のための測定法他)

Fig. 3 A peptide segment of a protein backbone structure.

に分類できる⁶⁾。参考のために、タンパク質のアミノ酸残基を **Fig. 3** に示す。主鎖 $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ シグナルの帰属のための測定の主なものには、HN(CO)CA, HNCA, CBCA(CO)NH, CBCANH, HNCO, HN(CA)CO などがある。側鎖 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ シグナルの帰属のための測定としては、HBHA(CO)NH, H(CCCO)NH, (H)CC(CO)NH, HCCH-COSY, HCCH-TOCSY などがある。NOE 情報取得のための測定には、 ^{15}N -separated NOESY, ^{13}C -separated NOESY, 4D $^{13}\text{C}/^{13}\text{C}$ -separated NOESY などがある。3 重共鳴 NMR と多次元化により、主鎖・側鎖シグナルの帰属は単純かつ容易になった。この状況を踏まえて、専用のプログラムを用いて帰属のステップを自動化・高速化する試みが盛んに行われるようになっていく。

Fig. 4 に、 $^2\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ユビキチン・YUH1 複合体について、主鎖シグナルの帰属の例を示す。ソフトウェアには、Per Kraulis が作成した ANSIG V3.3 を用いた。左端のウインドウは $^1\text{H}-^{15}\text{N}$ HSQC である。左から 2 枚目、3 枚目には、HNCA, HN(CO)CA, HN(CA)CB, HN(CO)CACB の 4 種類のデータを重ねて表示してある。HNCA (水色) は $i-1$ 番目と i 番目のアミノ酸残基の α 炭素、HN(CO)CA (緑色) は $i-1$ 番目の残基の α 炭素を示す。重畳したシグナルが $i-1$ 番残基の α 炭素、重畳していないシグナルが i 番残基の α 炭素である。同様に、 $i-1$ 番目と i 番目の残基の側鎖 β 炭素を示す HN(CA)CB と、 $i-1$ 番残基の β 炭素を示す HN(CO)CACB から、側鎖の β 炭素を帰属できる。右から 1 枚目、2 枚目には、 $i-1$ 番目のアミノ酸残基のカルボニル炭素を示す HNCO (桃色) と、 $i-1$ 番残基と i 番残基のカルボニル炭素を示す HN(CA)CO (赤色) を表示している。重畳したシグナルが $i-1$ 番残基のカルボニル炭素、重畳していないシグナルが i 番残基のカルボニル炭

素である。以上のような情報を総合して、 $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ のピークの帰属を行う。

NMR で観測可能な現象のうち構造決定に最も重要な情報は、NOE として観測される 2 つの ^1H 原子間の距離情報である。NOE の強度は距離の 6 乗に反比例するので、2 つの ^1H が隣接すれば強い NOE が観測される。**Fig. 5** に、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ -DinI タンパク質について 3D ^{13}C -NOESY スペクトルを解析した例を示す。ソフトウェアは ANSIG V3.3 を用いている。左端の上下 2 つのウインドウに $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC を示し、他のウインドに HSQC のピークについて取り出した 4 枚のスライスの 3 次元 ^{13}C -NOESY を表示している。斜線上のピークの上下にあるピークが、近距離にある ^1H を示す。これらのピークの帰属をたどることで、近接する ^1H の組み合わせを決定できる。

以上の他に有力な情報は、NMR 観測可能な核種 (^1H , ^{13}C , ^{15}N) の 3 本の共有結合を介したスピン・スピンカップリング定数 (3J) である。 3J の大きさは 3 本の共有結合を含む 2 面角の大きさに依存しており、Karplus の式にしたがって 2 面角の構造情報として構造計算に用いられる。水素結合の情報も NMR によって直接捉えることが可能で、距離情報に変換されて構造計算に用いられる。以上のような高次構造情報をもとに高次構造計算を行うわけであるが、この際には Distance Geometry 法や Simulated Annealing 法といったアプローチが用いられる。

理化学研究所で NMR により得られたタンパク質の立体構造の例を **Fig. 6** に示す。螺旋状の構造をもつ α ヘリックス、ひだ状の構造の β シートと、それらをつなぐ部分からなる。NMR を用いた構造解析の中で、NOE 解析と構造計算が最も時間を要する。その理由として、① NOE シグナルのうち解析初期に明確に帰属可能なのはごく一部であること、② 残りの NOE の帰属は構造計算を繰り返しながら行う必要があること、③ NOE の解析にはタンパク質・アミノ酸の立体化学的な知識と経験が必要であること、などがある。最近では、構造情報解析と構造計算の段階においても自動化・高速化を進める動きが活発である。構造解析の自動化システムは、効率よく構造を解析できるだけでなく、人間の恣意的な判断を排除できるという利点を持つ。また、得られた構造の評価についても客観的な解析が可能になる。

Figure 1 displays the distribution of the invasive species *A. theae* across the Pacific Northwest, including Washington, Oregon, and California. The figure consists of four maps showing the distribution of *A. theae* in the Pacific Northwest, including Washington, Oregon, and California. The maps are labeled with codes such as A1000-41000, A1000-41000, A1000-41000, and A1000-41000. Below the maps is a table with columns for 'A. theae' and 'A. theae'.

A. theae	A. theae
1	1
2	2
3	3
4	4
5	5
6	6
7	7
8	8
9	9
10	10
11	11
12	12
13	13
14	14
15	15
16	16
17	17
18	18
19	19
20	20
21	21
22	22
23	23
24	24
25	25
26	26
27	27
28	28
29	29
30	30
31	31
32	32
33	33
34	34
35	35
36	36
37	37
38	38
39	39
40	40
41	41
42	42
43	43
44	44
45	45
46	46
47	47
48	48
49	49
50	50
51	51
52	52
53	53
54	54
55	55
56	56
57	57
58	58
59	59
60	60
61	61
62	62
63	63
64	64
65	65
66	66
67	67
68	68
69	69
70	70
71	71
72	72
73	73
74	74
75	75
76	76
77	77
78	78
79	79
80	80
81	81
82	82
83	83
84	84
85	85
86	86
87	87
88	88
89	89
90	90
91	91
92	92
93	93
94	94
95	95
96	96
97	97
98	98
99	99
100	100

低温工学

Fig. 6 Protein structures determined by NMR at RIKEN.

NMR から得られる NOE 以外の構造情報で、高次構造解析に有用であるとして最近注目を集めているものに、残余双極子カップリングがある。2 価の鉄イオンが配位したヘムのような常磁性中心を持つタンパク質はそれ自身で磁場に弱く配向する。この性質を利用して、残余双極子カップリングというパラメータを求める。残余双極子カップリングは曖昧さを含まずに観測することが可能で、タンパク質の配向軸に対する結合ベクトルの角度情報に変換することができることから、高次構造解析に普遍的に用いることができるパラメータになってきている。残余双極子カップリングのような情報を積極的に活用し、高次構造の初期の段階で確度の高い初期構造を得ることができれば、高次構造計算の自動化はいつそう容易になり、信頼性の高いシステムになっていくと考えられる。

4. 理化学研究所「構造プロテオミクス」プロジェクト

4.1 構造ゲノム科学／構造プロテオミクス

生体タンパク質は 10 万種類以上あるが、アミノ酸残基配列の類似性に基づき、約 1 万種類の基本的な立体構造ファミリーに分類できると考えられている。各々のファミリーから代表を選び、その立体構造を実験的に決定できれば、ファミリーに属する残りのタンパク質の立体構造を計算で推定できるようになる。現在、タンパク質ファミリーの立体構造と分子機能の百科事典を作る計画が、日米欧で進んでいる。このようなアプローチは、理化学研究所の横山らにより提案され、1998 年に理化学研究所ゲノム科学総合研究センターの設立とともに、プロジェクトがスタートした。その後、国際的にも認知

され、「構造ゲノム科学」や「構造プロテオミクス」と呼ばれるようになり、国際的なコンソーシアム作りも進みつつある³⁾。理化学研究所では、2001 年 4 月より、ゲノム科学総合研究センターおよび播磨研究所・大型放射光施設 SPring-8 の緊密な連携を行うため、「構造プロテオミクス」プロジェクト (RIKEN Structural Genomics/ Proteomics Initiative, RSGI) を開始した。さらに、2002 年 4 月からは、文部科学省によって、3,000 の立体構造を決定するためのオールジャパン体制がスタートする。

4.2 構造解析の流れ

理化学研究所ゲノム科学総合研究センターでは、NMR 施設 (Fig. 7)、タンパク質発現・解析高度化施設などを設置して、プロジェクトを推進している。タンパク質の発現・精製から立体構造解析に至る流れを示すと次のようになる (Fig. 8)。

- (1) アミノ酸残基配列の類似性に基づく分類わけを行い、タンパク質を構成する機能ドメインを約 1 万種類のファミリーに分類する。
- (2) 高度好熱菌・マウス・ヒト・シロイヌナズナなどから採取した鋳型 DNA (cDNA) から、該当する部分を切り出す。cDNA には、国内の多様な研究機関で単離されているものを利用する。

Fig. 7 NMR facility at RIKEN Yokohama Institute.

Fig. 8 Flow diagram for protein structure determination at RIKEN.

- (3) 切り出した cDNA からタンパク質を発現させる。発現には、大腸菌に DNA 組み換えを施す方法と、細胞破砕液に基質、酵素を加えて試験管内で合成する方法（無細胞タンパク質合成法）がある⁷⁾。生物を用いる方法では、発現できるタンパク質が限られるので、無細胞タンパク質合成法を用いることも多い。
- (4) 特定のタンパク質について大量発現の可否、結晶化の可否などをスクリーニングし、結晶化できるものについては、SPring-8 の X 線ビームラインで、立体構造を決定する。
- (5) 結晶化しにくいタンパク質については、安定同位体 (^{13}C , ^{15}N など) で標識した水溶液サンプルを作成し、NMR 計測で立体構造を決定する。
- (6) 得られた立体構造を PDB などのデータベースに登録する。
- (7) 構造解析と平行して進める機能解析の結果とあわせて、論文発表や知的財産権獲得を行う。

4.3 大型 NMR 施設

NMR 解析には、ゲノム科学総合研究センターの NMR 施設 (Fig. 7) が活用される。タンパク質発現・解析高度化施設で合成したタンパク質を、NMR 施設で構造解析する。タンパク質の合成から立体構造

の決定まで約 1 ヶ月を要するので、1 台の NMR 装置で解析できるのは年間で 10~20 構造である。年間に数百構造を決定できるように、高感度・高分解能の NMR 装置を約 20 台設置し、構造解析を進めている。

NMR 施設は、南北両ユニットからなる (Fig. 7)。各ユニットは多角形の中央建屋を 1 辺 7.5 m の正六角形ドーム 5 個がとり囲んでいる。中央建屋には、自己磁気シールドされた 600 MHz 装置が 5 台設置されている (Fig. 9)。ドームには、800 MHz の高磁場 NMR 装置が 1 台ずつ設置されている。ドーム形状はマグネットの 5 ゴウスラインに対応する。800 MHz NMR 装置は 2 K に冷却するので、超流動冷凍器を中央建屋 2 階の真空ポンプに接続し、排気する。真空ポンプは、停電に備えて UPS を持つ。液体ヘリウムの蒸発量は約 200 mL/h と少ないので、注液は 1.5 ヶ月に一度でよい。1 年間に亘り 2 K 冷却マグネットを運転してきたが、2 K 冷却に伴うトラブルはほとんどない。ちなみに、4.2 K 運転の 600 MHz 装置の場合、液体ヘリウム蒸発量は 50 mL/h なので、注液は 3 ヶ月に一度でよい。

NMR 装置に液体ヘリウムと液体窒素を供給するために、低温センターを設けている。120 L/h の液化機でヘリウムを液化し、3,000 L の貯蔵タンクに貯液する。マグネットへの注液は小型デュワー (250 L) を介して行う。ヘリウムは、低温センターのガスバッグに回収し、建屋外のカードルに蓄える。ヘリウムの回収率は 95% である。

液体窒素は、1 万 L の貯蔵タンクから中央建屋 2 階

Fig. 9 Active-shield type 600 MHz NMR at Riken NMR facility.

の気液分離槽に送られ、ワンタッチでマグネットに供給される。NMR 装置では、液体窒素注液の頻度が高く煩雑なので、液体窒素供給のワンタッチ化はメリットが大きい。

5. あとがき

NMR によるタンパク質の構造解析は、超伝導マグネットによる高磁場技術、RF パルス発生技術、連鎖帰属や NOE 帰属を可能にする多核種多次元パルスシーケンスなどが相まって、今日の興隆をもたらされた。

現在、連鎖帰属や NOE 帰属の自動化・高速化が進みつつある。また、1 GHz の超高磁場を利用した TROSY の開発により NMR 計測の分子量限界が打ち破られつつあるが、これに絡めて、ハード面で 1 GHz の NMR マグネットの開発が要求され始めている。わが国の高い超伝導極低温技術を活用して、世界に先駆けてこの 1 GHz NMR 装置を実現することができれば、タンパク質構造解析において強い立場を築くことができるものと考えている。

参 考 文 献

- 1) K. Wüthrich: The second decade—into the third millennium, *Nature structural biology*, NMR Supplement, July (1998) 492
- 2) Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/holdings.html#growth>
- 3) 横山茂之: 構造ゲノム科学がめざすもの, *実験医学* **19**(8) (2001) 930
- 4) 木吉 司ら: 1 GHz 級 NMR マグネットの開発—900MHz における磁場安定度—, 第 64 回低温工学・超伝導学会講演概要集 (2000) 156
- 5) 堂本竹雄: NMR 用超伝導マグネットの開発の歴史と現状, 超伝導応用研究会シンポジウム講演論文集 (2000) 55
- 6) 伊藤 隆, 寺田 透, 横山茂之: NMR 構造生物学の最新技術, *日本農薬学会誌* **21** (1996) 45
- 7) 木川隆則: 無細胞系を用いたタンパク質の大量合成, *生物物理* **40**(6) (2000) 391