

実施課題名 700MHzでのDNP-1H/13C-NMRプローブ開発

【背景】

高磁場DNP法は、固体NMRの感度を飛躍的に向上させる汎用性のある新しい実験法である。本課題では試料温度30Kの下での高磁場DNP法を実施することができるDNP-NMRプローブの性能評価を行う。

【実施内容】

JEOL RESONANCE社が製作した700MHz用DNP-NMRプローブについて、蛋白研でDNP-NMR実験を行い、その性能の実証と実験結果に基づく改良を行った。極低温ヘリウムガスフローの下で試料回転実験を行い、試料管径の最適化を行った。これにより、安定、かつ再現性の高い試料回転を達成できた。また蛋白研に導入されている循環式Heガス冷却装置とDNPプローブを組み合わせ、60時間以上の連続試料回転試験にも成功した。長時間運転が可能となったことで、長時間のNMR測定に対応可能となった。また運転中にヘリウム冷媒を消費することがないので、従来の液体ヘリウム冷媒を気化させるタイプの冷却方式と比較して、循環式Heガス冷却装置を利用した場合の運転コストを1/10にすることができた。

¹³C高分解能固体NMR測定を安定して行えるように、NMR高周波回路の性能を向上させた。RF効率と放電耐圧を改善して、固体NMR測定に要求される回路性能にすることができた。その結果、1D {¹H}-¹³C CPスペクトル、2D 1H-driven spin diffusionスペクトル等を得ることができた。得られたスペクトルは固体NMRによる構造解析に利用できる品質を有している。今後、応用研究に利用されると期待している。

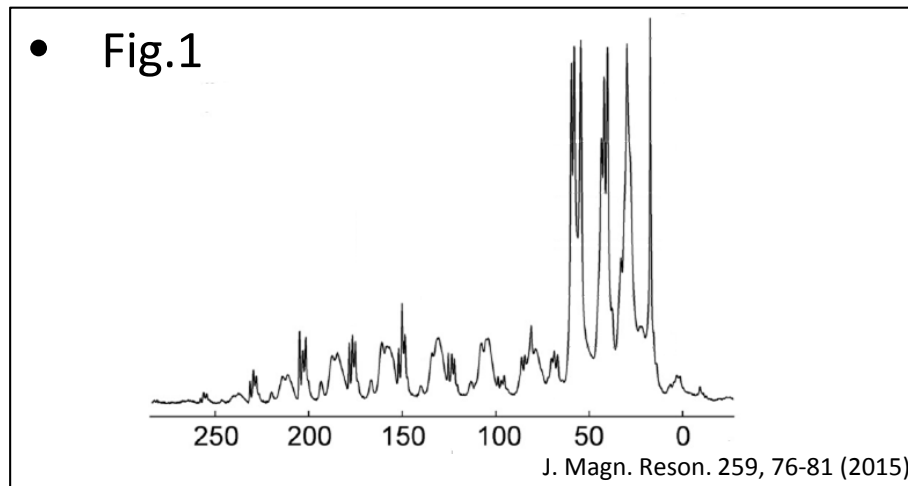


Fig.1説明: 1D {¹H}-¹³C CP-MASスペクトル

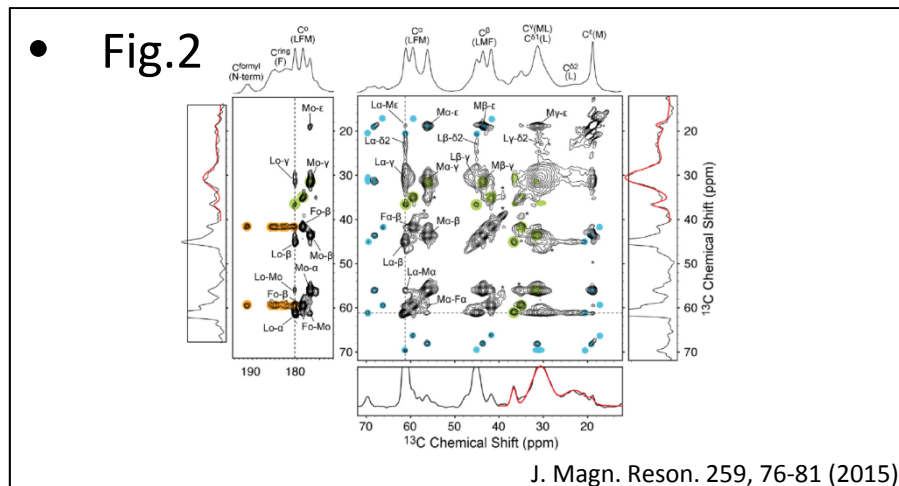


Fig.2説明: 2D 1H-driven spin diffusionスペクトル

NMR 共用プラットフォーム 特定課題利用
利用報告書

申請番号	PF007	課題受付番号	PF14-300-002
実施機関名	株式会社 JEOL RESONANCE		
実施部署名	技術部		
実施責任者管理職名・氏名	職名	1. 統括部長 2. 研究員	氏名 1. 末松 浩人, 2. 中村 新治
実施部署所在地	〒196-8558 東京都昭島市武蔵野 3-1-2		
利用課題名	700MHz での DNP-1H/13C-NMR プローブ開発		
本課題の概要・目的	<p>高磁場 DNP 法は、固体 NMR の感度を 1000 倍以上向上させうる汎用性のある新しい実験法である。その高い感度を利用して、微量試料での解析、存在割合の低い材料界面や膜の分子構造・状態解析、13C/15N 等レアスピン種の天然存在比でのスピン結合解析などが可能になる。これにより、NMR の適用範囲を拡げ、解析能力を高めることで NMR 装置の需要を大幅に拡大することが期待できる。しかし、現時点では MIT の Griffin グループおよびその技術に基づくブルカー社が 16.4T で窒素ガスを用いて約 100K で DNP 実験を行っている。本課題ではヘリウムガスを用いて 30K で DNP を行う。磁化強度は温度の逆数に比例するので、原理的に競合グループより数倍大きい世界最高感度を得ることを予定している。目的は、この高磁場 DNP-NMR 法について、高い感度性能を持ち、NMR ユーザーが使いやすい実用的な DNP プローブ・システムの開発を行うことである。</p> <p>この DNP 法は、高磁場以外に、高出力テラヘルツ波照射や極低温での高速試料回転など最先端の科学技術を利用することで、初めて実施することができる。しかし申請者が所属する社内では、16.4 と 14.1T で稼働している DNP-NMR 装置が無く、これら最先端の科学技術を整備された形で利用することが出来ない。このために、大阪大学蛋白質研究所で整備されている磁場強度 16.4 と 14.1T のワイドボア高分解能高磁場マグネット、テラヘルツ波光源であるジャイロトロンと高効率伝送系、試料回転用極低温ガス供給装置、テラヘルツ波およびラジオ波計測機器などの DNP-NMR 用実験環境を利用する。14.1T の装置では、平成 25 年度に開発した DNP-1H/13C-NMR プローブが設置されているため、16.4T の装置で開発するプローブのコントロール実験を行う。</p>		
利用実施時期、及び期間	<p>平成 26 年 4 月 1 日～平成 27 年 3 月 31 日</p> <p>総利用日数：43 日</p> <p><u>当初計画どおり</u>・当初計画変更 (変更理由)</p>		
利用施設 大阪大学	NMR 装置 (該当部分に ○)	<p>利用装置①</p> <p>・ () 固体 500MHz、() DNP 固体 600MHz、 (○) DNP 固体 700MHz (高度化後)、() 固体 700MHz、 () 溶液 400MHz、() 溶液 500MHz、() 溶液 600MHz、 () 溶液 800MHz、() 溶液 950MHz</p>	

		<p>利用期間1：平成26年10月14日～平成26年10月20日 利用期間2：平成26年11月18日～平成26年11月27日 利用期間3：平成27年1月5日～平成27年1月16日</p>
		<p>利用装置②</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ () 固体 500MHz、(○) DNP 固体 600MHz、 () DNP 固体 700MHz (高度化後)、() 固体 700MHz、 () 溶液 400MHz、() 溶液 500MHz、() 溶液 600MHz、 () 溶液 800MHz、() 溶液 950MHz <p>利用期間1：平成26年7月2日～平成26年7月4日 利用期間2：平成26年9月3日～平成26年9月5日 利用期間3：平成26年9月9日～平成26年9月16日</p>
その他の 利用施設		
成果の 概要	実施内容	<p>JEOL RESONANCE 社が製作した 700MHz 用 DNP-NMR プローブについて、蛋白研で DNP-NMR 実験を行い、その性能の実証と実験結果に基づく改良を行った。極低温ヘリウムガスフローの下で試料回転実験を行い、試料管径の最適化を行った。これにより、安定、かつ再現性の高い試料回転を達成できた。また蛋白研に導入されている循環式 He ガス冷却装置と DNP プローブを組み合わせ、60 時間以上の連続試料回転試験にも成功した。長時間運転が可能となったことで、長時間の NMR 測定に対応可能となった。また運転中にヘリウム冷媒を消費することがないので、従来の液体ヘリウム冷媒を気化させるタイプの冷却方式と比較して、循環式 He ガス冷却装置を利用した場合の運転コストを 1/10 にすることができた。</p> <p>¹³C 高分解能固体 NMR 測定を安定して行えるように、NMR 高周波回路の性能を向上させた。RF 効率と放電耐圧を改善して、固体 NMR 測定に要求される回路性能にすることができた。その結果、1D {1H} - ¹³C CP スペクトル、2D 1H-driven spin diffusion スペクトル等を得ることができた。得られたスペクトルは固体 NMR による構造解析に利用できる品質を有している。今後、応用研究に利用されると期待している。</p>

<p>本課題により得られた成果と当初目標との比較</p>	<p>DNP プローブが完成したことによって、DNP-NMR データを安定して取得することができる状況になった。応用研究に利用可能な品質をもつ 1D {1H} - 13C CP スペクトル、2D 1H-driven spin diffusion スペクトル等を得ることでできたことは、当初目標を上回る結果であった。生体系や材料系で実用的な NMR 解析に利用するにはまだ装置性能として不足している部分が多いが、それでも低分子の試料などに限れば、従来の NMR 法の適用が困難な分野に適用可能であろう。</p> <p>本課題では 16.4T の下で室温 NMR に比べて約 500 倍の高感度化を達成している。目標の 1000 倍の高感度化に対して未達の状況である。この目標を達成するにはいくつかの要素技術の開発が必要であると考えている。</p>
<p>成果発表</p>	<p>【特許】</p> <p>○中村新治, 松木陽, 藤原敏道, 「NMR プローブ (循環方式冷却機を用いた動的核分極固体高分解能 NMR 装置)」 出願番号 特願 2015-016082, 提出日 2015 年 1 月 29 日 発明届出時受付番号 : K20140284, 届出受付番号 G20150053 (DE) (K20140284), 出願国 ドイツ, 出願名称 NMR プローブ, 出願番号 102016000863.6 出願日 2016 年 1 月 28 日 届出受付番号 G20150053 (US) (K20140284), 出願国 アメリカ, 出願名称 NMR PROBE, 出願番号 15/008767 出願日 2016 年 1 月 28 日</p> <p>【論文】</p> <p>○Yoh Matsuki; Shinji Nakamura; Shigeo Fukui; Hiroto Suematsu and Toshimichi Fujiwara. Closed-cycle cold helium magic-angle spinning for sensitivity-enhanced multi-dimensional solid-state NMR, J. Magn. Reson. 259, 76-81 (2015) doi: 10.1016/j.jmr.2015.08.003 (Journal of Magnetic Resonance Most Read Article in Q3 2015)</p> <p>【学会発表】</p> <p>○Yoh Matsuki, Toshitaka Idehara, Yoshinori Tatematsu, Jagadishwar Sirigiri, Shinji Nakamura, Toshimichi Fujiwara, Dynamic Nuclear Polarization for Biological Solid-State NMR at High Fields and Low Temperatures, APES2014-IES-SEST2014, (APES2014: Asia-Pacific EPR/ESR Symposium 2014, IES: International EPR (ESR) Society Symposium, SEST2014: the 53rd SEST Annual Meeting). Nov. 12 (Wed) -16 (Sun), 2014, Todaiji Cultural Center, Nara Japan. 57th Experimental NMR Conference (ENC), Asilomar, CA, USA, April 2015, "Closed-Cycle Helium-Cooling and -Spinning MAS NMR Probe System for DNP at 16.4 T". International Chemical Congress of Pacific Basin Society (Pacifichem), Honolulu, HI, USA, December 2015, "Dynamic Nuclear Polarization at 16.4 T and 30 K using a Novel Closed-Cycle Helium-Cooling MAS NMR Probe System".</p>

今後の展開	<p>本課題で得られた成果によって、極低温ヘリウムフロー下で長時間安定した ^{13}C 高分解能固体 NMR 測定が可能であることを示した。このことによって高磁場 DNP 法が将来的に生体系や材料系で実用的な NMR 解析手法であることを示すことができた。現在の装置でも試料を限定すれば、従来法では取得不能な知見を得ることは可能であろう。しかしながら応用範囲をさらに広げるには、さらなる装置開発が必要となる。現在の課題として、1) 試料回転性能の向上、2) 感度向上、3) プロブライナップの拡大、4) ユーザー利便性の向上、がある。これらの課題を解決するために、新規 DNP プロブを開発している。</p>
社会・経済への波及効果の見通し	<p>本課題の成果として、$^{13}\text{C}/^1\text{H}$ DNP-MAS 700MHz プロブを完成させることができた。この装置を広く利用するにはまだ多くの課題があり、従来の固体 NMR 法に比べてプロブの仕様は限定されている。それでも、従来法に比べて圧倒的に高い NMR 感度はこれまでに想定できなかった分野で有効となることが期待できる。この装置は蛋白研のプラットフォーム事業を介してさまざまなユーザーに利用していただける。広く公開することで多くの分野で利用を検討してもらえる可能性が高まる。</p>
利用における感想 (改善要望等を含む) 利用周辺環境に関する希望	<p>プロブの開発と性能評価のサイクルを迅速に実施できる点が良かった。設備の管理状況の質が高く、常に最良の結果を得ることができた。</p>
今後の NMR 共用プラットフォームに対する期待	
成果公開延期の希望の有無	<p>() あり : (○) なし 「あり」の場合理由 :</p>
その他	