

実施課題名 1mm-超高速MASプローブの温度コントロールシステムの開発

【背景】

JEOL製1mmMASプローブでの温度コントロールは、試料管が軽量で超高速回転しているため、VTガスの影響を受けやすく、室温から零度近傍までの温度制御が困難であった。このため室温以上で不安定になる試料の測定はできなかった。より低温の実験のためには、VTガスと試料回転のベアリングガスの流量バランスを最適化できるようにする必要がある。これまで、阪大蛋白研の固体NMR装置で独自開発した冷却ガスシステムを用いて4mm及び3.2mmMASプローブで、20℃付近で温度コントロールをして測定を行ってきた。そこで今後の産業支援プログラムの利用者の測定温度に関する要望に応えるために、既設の冷却ガスシステムを用いてJEOL製1mmMASプローブの温度コントロールシステムの開発を行うことを目的とする。

【実施内容】

阪大蛋白研所有の電気チラーで冷却したVTガスをJEOL製1mmMASプローブに送り込むように、ガスラインを組み直した(Fig.1)。試料温度は ^{79}Br のスピン格子緩和時間(T_1)を測定して算出した。試料回転数70kHzでプローブ温度が27.3℃のとき、室温のVTガス流量が0L/minで試料温度**74.7℃**であった。電気チラーで冷却したVTガス流量16L/minをプローブに流すとプローブ温度は15.9℃、試料回転数70kHzの時の試料温度は58.5℃で、目標の試料温度には到達しなかった。改良・検討したのは次の2点。[1]電気チラーとプローブ間の転送ライン、[2]プローブ内の転送ライン。改良の結果、VTガス流量16L/minでプローブ温度は-20℃になり、70kHz試料回転時の試料温度は34.2℃で、改良前より24.5℃も下がった。しかし、まだ目標温度には届いていなかった。VTガスを40L/minに増量するとプローブ温度が-62.7℃に下がったため、VTガス量の条件検討を試みた。ここで、メーカー保障の限界値は20L/minで、VTガス量を増やすと高速試料回転に影響がある。VTガス20L/minで20kHz以上は回転しなかった。そこで、VTガス流量16L/minで試料を10kHzに回転、維持したまま回転数が乱れないようにVTガス流量を30L/minまでゆっくり増やした。その後、試料回転を70kHzに上げると、試料温度は**3.4℃**となり、目標試料温度を超えて、温度を下げることに成功した。また、ヒーターを使って、試料温度を約4℃から30℃までコントロールすることができた(Fig.2)。

● Fig.1

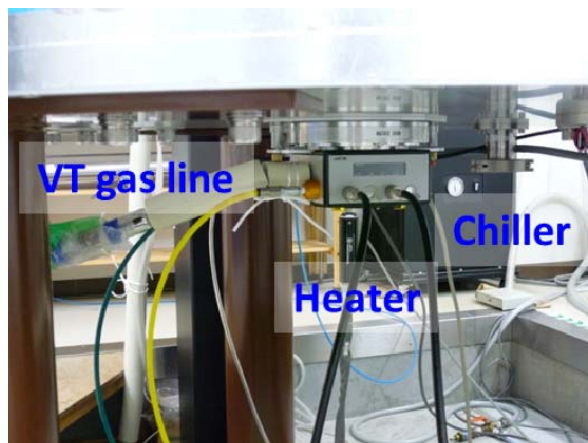


Fig.1 1mmMASプローブの温度コントロールシステム

● Fig.2

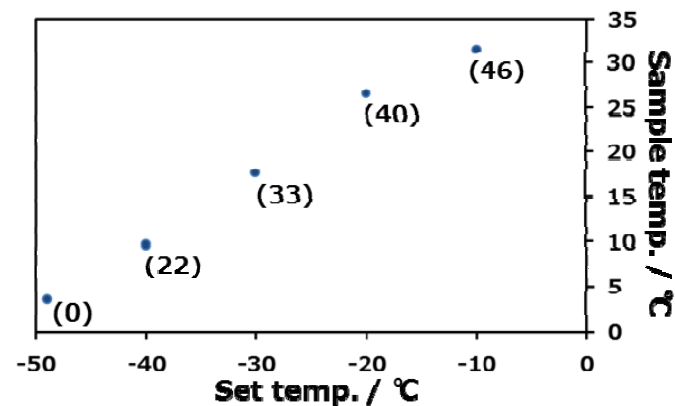


Fig.2 設定温度と試料温度のグラフ
括弧内数値はヒーターの割合(%)

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	PF024	課題受付番号	PF15-300-003
実施機関名	日本たばこ産業株式会社		
実施部署名	医薬総合研究所		
実施責任者管理職名・氏名	職名	主席研究員	氏名 大野 靖
実施部署所在地	〒569 - 1125 大阪府高槻市紫町 1-1		
利用課題名	1mm-超高速 MAS プローブの温度コントロールシステムの開発		
本課題の概要・目的	<p>JEOL 製 1 mm-MAS プローブはわずか 0.8ul の試料量で超高速回転速度での固体 NMR 測定を行うことができる。この超高速 MAS で ¹H デカップリングを行い ¹H 高分解能スペクトルの直接観測が可能である。供する試料量が少ない場合、単位試料量当たりの感度が高いことや ¹H 観測で感度を大きく向上させて測定できるので利用価値が高い。特に同位体標識できない試料では、先鋭化したプロトン信号からの構造情報は有用である。問題は、試料が 70kHz の超高速回転時に試料温度がおおよそ 40℃ 上昇することである。つまり、室温 25℃ のとき、試料温度が約 65℃ に達する。医療系医薬品の場合、試料温度が 10℃~30℃ で測定できることが望ましい。JEOL 製 1 mm MAS プローブでの温度コントロールは、試料管が軽量で超高速回転しているため、VT ガスの影響を受けやすく簡単ではない。試料回転に影響を与えないように、VT ガスと試料回転のベアリングガスの流量バランスを検討する必要がある。これまで、阪大蛋白研の固体 NMR 装置で Varian 製 4 mm と 3.2 mm MAS プローブを使って、20℃ 付近で温度コントロールをして測定を行ってきた。このように阪大蛋白研施設には低温システムが導入されており、低温の測定実績がある。そこで今後の産業支援プログラム利用のために、JEOL 製 1 mm MAS プローブの温度コントロールシステムの開発を行うことを目的とする。</p>		
利用実施時期、及び期間	<p>平成 27 年 9 月 9 日~平成 27 年 12 月 6 日</p> <p>総利用日数： 17 日</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 当初計画どおり・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 27 年 9 月 9 日~平成 27 年 9 月 16 日 利用期間 2：平成 27 年 10 月 1 日~平成 27 年 10 月 2 日 利用期間 3：平成 27 年 11 月 30 日~平成 27 年 12 月 6 日</p>	

その他の 利用施設	
成果の 概要	<p>実施内容</p> <p>最初に JEOL RESONANCE 社製 1 mm MAS プローブに阪大蛋白研所有の電気チラーから VT ガスを送り込むため、断熱チューブを設置した。また、試料温度は粉末 KBr を 1mm 試料管に詰めて、⁷⁹Br のスピン格子緩和時間 (T_1) から求めた (K. R. Thurber & R. Tycko, <i>JMR</i> 196 (2009) 84)。プローブ温度が 27.3°C のとき、試料回転数 70kHz での試料温度は 74.7°C であった。これに対して、室温の VT ガスを流量 16L/min で送り込むと、試料温度は 63.0°C となり、11.7°C 下がった。次に、電気チラーで VT ガス温度を -15.0°C まで下げて、VT ガス流量 16L/min で送りこむと、プローブ温度は 15.9°C に下がったが、試料回転数 70kHz での試料温度は 58.5°C で、4.5°C しか下がらなかった。そこで、改良・検討するのは次の 2 点が考えられた。</p> <p>[1] 電気チラーとプローブ間の転送ライン 約 -80°C まで冷却できる電気チラーにもかかわらず、VT ガス温度が -15.0°C までしか下がらないため。</p> <p>[2] プローブ内の転送ライン VT ガス温度が -15.0°C にもかかわらず、プローブ温度 (サンプル直前) が 15.9°C で、プローブ内で 30.9°C も温度上昇しているため。</p> <p>まず、改良点 [1] として、電気チラーからプローブまでの転送ラインの断熱効率を上げるために真空二重管を設置した。その結果、VT ガス温度が -65°C まで下げられるようになり、VT ガス量 16L/min で送り込むと、プローブ温度が -2°C で平衡になった。次に、改良点 [2] として、JEOL RESONANCE 社に協力を依頼してプローブ内の真空二重管を改良した。改良後、VT ガス温度 -65°C で、VT ガス流量 16L/min で送り込んだとき、プローブ温度は -20°C まで下がった。また、70kHz で試料を回転すると、試料温度は 34.2°C となり、改良前に比べて 24.5°C 下がったが、未だ目標の試料温度の 20°C には到達していなかった。</p> <p>そこで、改良点 [3] として、VT ガス条件を検討した。VT ガス流量を 40L/min にするとプローブ温度が -62.7°C まで下がったが、メーカーが保障している VT ガス流量の上限値は 20L/min であり、更に、VT ガス流量を増やすと高速試料回転に影響するため工夫が必要である。まず、VT ガス流量 20L/min では 20kHz 以上は試料が回転しないことが判明した。そこで、VT ガス流量 16L/min で試料を 10kHz まで回転させて、次いで、VT ガス流量を 10kHz の回転数が乱れないように 30L/min までゆっくり増量した後、試料回転数を 70kHz まで上げた。この時ドライブのガス圧は 440kPa で、通常 405kPa で回転数 70kHz に到達することから、安定に高速回転するためには、VT ガス流量は 30L/min が限界であると判断した。また、10kHz の試料回転中に VT ガス流量を増やすことで、メーカーの上限値 20L/min を超えて VT ガス流量を増やすことができた。また、VT ガス流量 16L/min で試料回転 10kHz 時の試料温度は 6.5°C、次いで、VT ガス流量を 30L/min にすると試料温度は -19.7°C まで下がり、更に、試料回転 70kHz まで上げて、試料温度は 3.4°C となり、目標の試料温度以下に下げることが成功した。また、ヒーターを入れて、設定温度を変えて試料温度を測定した結果、9.7°C (設定温度: -40°C), 17.6°C (-30°C), 26.5°C (-20°C), 31.5°C (-10°C) であった。</p>

本課題により得られた成果と当初目標との比較	1 mmプローブの超高速試料回転の測定時は、試料温度が70℃以上の高温になるが、阪大蛋白研所有の電気チラーを1 mmプローブ用に設置して最適な条件を決めて、目標の試料温度20℃を超えて3.4℃まで試料温度を下げる事ができた。また、ヒーターを使って試料温度を4℃から30℃までコントロールできるようになった。これによって、目標に掲げたJEOL RESONANCE社製1 mm MAS プローブの温度コントロールシステムが完成した。
成果発表	
今後の展開	得られる量が少なく温度に影響を受けやすい医薬系・生体系試料について固体NMR測定をするときに、温度コントロール下で1 mmプローブを利用したい。
社会・経済への波及効果の見通し	1 mmプローブはわずか0.8ulの試料量で超高速回転速度での固体NMR測定を行うことができるため、材料系・医療系企業からのニーズが高い。今回、その1 mmプローブの温度コントロールシステムが完成したことで、室温から零度近傍までの温度条件が重要な試料についても測定が可能になり、汎用性、有用性が高まる。この温度可変1mmプローブを公開することで、NMRプラットフォーム利用者の要望に応えられる。
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	特になし
今後のNMR共用プラットフォームに対する期待	特になし
成果公開延期の希望の有無	() あり : (○) なし 「あり」の場合理由:
その他	特になし