

実施課題名 14N solid-state NMR

【背景】

生体科学・物質科学・材料科学など広い範囲で窒素原子は重要な位置を占めており、窒素核のNMRは原子レベルの理解のために非常に重要である。窒素核には ^{14}N , ^{15}N の二つの安定同位体が存在するが、ほとんどすべての窒素NMRは ^{15}N を用いて行われている。これは ^{15}N が $I=1/2$ であり、測定・解析が容易であるためである。しかしながら、 ^{15}N は0.4%以下の天然存在比しか持たず、多くの場合高価な同位体標識などを用いて測定するか、長時間の積算により測定する必要があり、日常的な活用には壁がある。一方、窒素原子の99.6%を占める ^{14}N 核はスピン $I=1$ である困難さのため、ほとんど利用されてこなかった。

【実施内容】

^{14}N NMRの測定に必要なパルスシーケンスの整備、および標準試料を用いた参照用データの取得を行った。測定手法としては、WURST以外のすべての測定法を網羅した。Spin-1/2を用いた間接測定、spin-1/2を用いたOver-tone ^{14}N 測定による測定。これらの測定では ^{14}N の局所的な環境を与えるパラメーター(四極子定数、化学シフト)が得られる。さらに $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ の相関測定を開発し、核間のconnectivityをえる新規手法を開発した。これにより ^{14}N の局所的環境のみならず、三次元立体構造の構築へとつながる。

● Fig.1

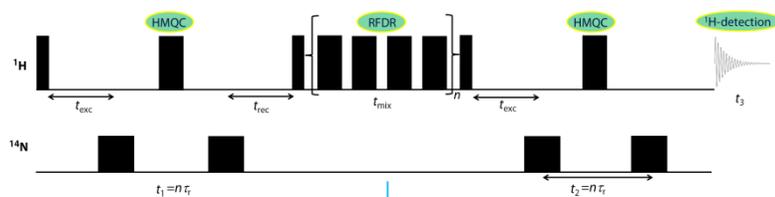


Fig.1 $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ 相関に用いるシーケンス

● Fig.2

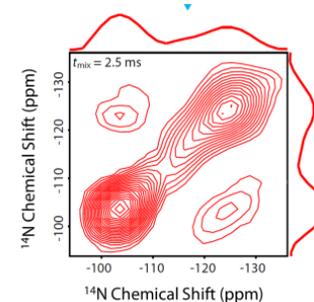


Fig.2 L-histidine HClH₂Oの $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ 相関スペクトル

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	PF002	課題受付番号	PF13-100-001
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	エキスパート	氏名 西山裕介
実施部署所在地	東京都昭島市武蔵野 3-1-2		
利用課題名	14N solid-state NMR		
本課題の概要・目的 (字数制限はありませんが 400字～600字以内(程度)で お書きください。)	<p>実用的な固体試料の 14N NMR 法を確立する。生体科学・物質科学・材料科学など広い範囲で窒素原子は重要な位置を占めており、窒素核の NMR は原子レベルの理解のために非常に重要である。窒素核には 14N, 15N の二つの安定同位体が存在するが、ほとんどすべての窒素 NMR は 15N を用いて行われている。これは 15N が $I=1/2$ であり、測定・解析が容易であるためである。しかしながら、15N は 0.4%以下の天然存在比しか持たず、多くの場合高価な同位体標識などを用いて測定するか、長時間の積算により測定する必要があり、日常的な活用には壁がある。一方、窒素原子の 99.6%を占める 14N 核はスピン $I=1$ である困難さのため、ほとんど利用されてこなかった。近年、WURST-CPMG 測定 (WURST パルスによる広帯域励起および CPMG による高感度測定)、spin-1/2 を用いた間接測定、overtone 14N NMR 測定など実用的な 14N NMR 測定法が開発されてきた。これらの手法の網羅的な比較を行い、14N NMR の実用的なガイドラインを作成する。</p>		
利用実施時期、及び期間	<p>平成 26 年 1 月 27 日～平成 27 年 3 月 31 日</p> <p>総利用日数： 21 日</p> <p>当初計画どおり・当初計画変更 (変更理由)</p>		

利用施設 理化学研究所	NMR装置 (該当部分に ○)	<p>利用装置①</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ () 溶液 600MHz、() 溶液 700MHz、() 溶液 800MHz、() 溶液 900MHz (○) 固体 700MHz <p>利用期間1：平成 26年 1月 27日～平成 26年 2月 3日 利用期間2：平成 26年 2月 20日～平成 26年 2月 23日 利用期間3：平成 26年 4月 18日～平成 26年 4月 22日 利用期間4：平成 26年 7月 7日～平成 26年 7月 14日</p> <hr/> <p>利用装置②</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ () 溶液 600MHz、() 溶液 700MHz、() 溶液 800MHz、() 溶液 900MHz () 固体 700MHz <p>利用期間1：平成 年 月 日～平成 年 月 日 利用期間2：平成 年 月 日～平成 年 月 日 利用期間3：平成 年 月 日～平成 年 月 日</p>
	立体構造解析 パイプライン	<ul style="list-style-type: none"> ・ 発現確認 : 利用回数 回 <hr/> <ul style="list-style-type: none"> ・ フォールド判定 : 利用回数 回 <hr/> <ul style="list-style-type: none"> ・ 大量調製 : 利用回数 回 <hr/> <ul style="list-style-type: none"> ・ 構造決定 : 利用回数 回
その他の 利用施設	理研 CLST-JEOL 連携センター ECZ600R	
成果の 概要	実施内容 (字数制限はありませんが400字～800字以内(程度)でお書きください。)	<p>14N NMR の測定に必要なパルスシーケンスの整備、および標準試料を用いた参照データの取得を行った。測定手法としては、WURST 以外のすべての測定法を網羅した。Spin-1/2 を用いた間接測定、spin-1/2 を用いかつ Overtone 14N 測定による測定。これらの測定では 14N の局所的な環境を与えるパラメーター(四極子定数、化学シフト)が得られる。さらに 14N/14N の相関測定を開発し、核間の connectivity をえる新規手法を開発した。これにより 14N の局所的環境のみならず、三次元立体構造の構築へとつながる。</p>

	<p>本課題により得られた成果と当初目標との比較 (字数制限はありませんが400字～800字以内(程度)でお書きください。)</p>	<p>WURST による広帯域励起手法以外のすべての手法の実装を行い、当初目標を達成した。当初目標に加えて、^{14}N-^{14}N の核間の相関を得る手法を開発した。^{14}N 原子核間の相関を得る手法はこれまでに存在しておらず、世界で初めての試みに成功した。これは spin-1/2 で広く用いられている、同種核、異種核間相関を用いた三次元構造解析法を spin-1 へと拡張する非常に大きな進展であり、^{14}N を用いた実用的構造解析へと大きな一歩を刻んだ。</p>
	<p>成果発表</p>	<p>Manoj Kumar Pandey, Yusuke Nishiyama, Proton-detected 3D $^{14}\text{N}/^{14}\text{N}/^1\text{H}$ chemical shift correlation experiment mediated through ^1H-^1H RFDR mixing on a natural abundant sample under Ultrafast MAS, J. Magn. Reson. 258 (2015) 96-101.</p>
	<p>今後の展開 (字数制限はありませんが300字～600字以内(程度)でお書きください。)</p>	<p>Spin-1/2 を用いた固体 NMR による構造解析技術はほぼ完成の域にある。化学シフトによる局所的構造解析、また量子化学計算を用いた化学シフトの理解はルーチンのツールになっている。さらに異種核間、同種核間相関を元にした connectivity の解析、またその build up curve 等を用いた距離測定が精密な 3次元構造解析を可能とした。これらの構造解析法を ^{14}N にも適用可能なように開発を継続する。^{14}N シフトの解析、距離情報の収集などが課題としてあげられる。</p>
<p>社会・経済への波及効果の見直し (字数制限はありません300字～600字以内(程度)でお書きください。)</p>		<p>化学、生物、材料科学など広い分野において窒素核は重要な役割を果たしている。しかしながら、二つある窒素の同位体 ^{14}N および ^{15}N のうち、ほとんどの場合、わずか 0.4%以下の存在比しか持たない ^{15}N のみが用いられてきた。この低い天然存在比は、一般的な窒素 NMR の利用の妨げとなってきた。低いスループットは常に大きな問題であり、その解決のために ^{15}N ラベル体も用いられているが、今度は高いコストが大きな壁となる。さらに窒素核間の相関に至っては ^{15}N の場合にはわずか 13ppm しか存在していない ^{15}N ペアを観測する必要があり、現実的に不可能であった。^{14}N の利用によりこれらの問題を一気に解決し、ハイスループット、ローコスト、高情報量の窒素核 NMR が実現する。これによりアカデミックのみならず、industry を含む広い世界で窒素 NMR による情報が利用可能となる。</p>
<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>		<p>マシンタイムが限られており、アウトプットを出すボトルネックとなっていた。もう少しマシンタイムを配分していただければ、よりアウトプットを出すことが可能です。</p>
<p>今後の NMR 共用プラットフォームに対する期待</p>		<p>高磁場のみならず、低磁場(400MHz など)の装置があるとより応用範囲、スループットが上がります。</p>

成果公開延期の希望の有無	(○) あり : () なし 「あり」の場合理由： 論文投稿中のため (⇒投稿済みとなったため公開)
その他	(上記の項目以外でご意見等お願いします。)