

実施課題名：超高感度スピン相関高分解能DNP-NMR装置開発

【背景】(実施課題の背景・目的を簡潔に具体的に記載してください。)

NMR法は低い感度が弱点である。NMR法の感度向上技術としてDNP(動的核偏極)法を用いて、本開発チームはこれまでに世界最高性能のDNP-NMR法の開発に成功している。この課題では、極低温検出法と極低温高磁場DNPにより、開発当初H28年の100KのDNPで得られたNMR感度をさらに100倍以上向上した装置を開発する。この核スピン超偏極法によって初めて検出可能になるスピン相関状態をNMR分光に応用する。生体分子や材料界面の構造解析を高感度に行えることを実証し、プラットフォームへの導入と活用を目指す。

【実施内容】(別紙の利用報告書に記載してある実施内容を簡潔に具体的に記載してください。)

(1) 高磁場極低温DNPによる高分解能 ^{13}C -NMRの感度向上

ヘリウムガス閉鎖システムによる25Kでの試料高速回転機構について、目標の12kHz回転数を達成した。サブミリ波高効率な伝送と試料回転・ラジオ波強度の安定化を図ることで、従来のDNP-NMR法DNP法に比べて、低温検出器も導入してノイズも削減することで本開発法で約580倍の感度向上を得て、実用的な応用が可能になった。

(2) スピン相関状態の検出とその応用

室温700MHz ^1H -NMRの偏極率0.006%に対して、低温高磁場DNP法によって7%まで向上させた。これにより偏極成分に関する高温近似が成立しなくなるため I_{S_2} など高次の成分が検出可能なほど大きくなる。この成分を利用して、多量子コヒーレンスの準備とそれによる偏極率の直接測定に応用できることを示した。また、この方法を結晶粒子の表面測定に応用した。

Fig.1

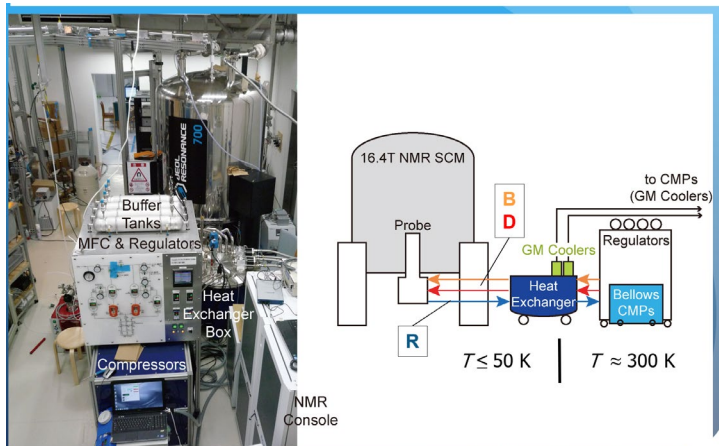


Fig.1説明 Heガス循環マジック角回転 DNP-NMR
プローブ・システム at 20K, 700 MHz/460 GHz

Fig.2

1. 安定性: $11\text{kHz} \pm 0.005\text{ kHz}$, $\pm 0.5\text{K}$ @20K
 2. 長時間連続運転: 10日以上, 冷媒交換なし
 3. 費用: 300円/時 @20K,
cf. 液体 N_2 1000円/時 @90K
 4. Heガス下で放電なし (特許プローブで解決)
 5. 20K安定高速回転 (特許ローターで解決)
- 既存の液体 N_2 90K回転技術に比べ有利

Fig.2説明 極低温Heガス循環システムによるマジック角
高速試料回転の性能

NMR 共用プラットフォーム 最先端利用開発課題
利用報告書

(課題実施者の方へ)

課題選定委員会にて、実施内容のフィードバックを行うため、ご記入下さい。本報告書については、必要な編集・加工を行った上で NMR 共用プラットフォームのホームページにて公開を致します。また、別途開催予定の成果報告会・シンポジウムや委託事業報告書作成時において、本報告書の内容についての発表や資料作成等のご協力をお願いする場合があります。

課題受付番号	PF16-01-0-004		
利用課題名	超高感度スピン相関高分解能 DNP-NMR 装置開発		
実施機関名	大阪大学		
実施部署名	蛋白質研究所		
実施責任者管理職名・氏名	職名	教授	氏名 藤原 敏道
実施部署所在地	大阪府吹田市山田丘 3-2		
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>高磁場 DNP 法を用いて固体 NMR について、これまでの DNP-NMR 装置に比べて約 100 倍の感度向上を達成することが目的である。このために、現在利用できる進歩したサブミリ波多重照射技術、低温低ノイズでの観測技術、極低温 DNP で初めて誘起される核スピン相関状態を作るなど新しい NMR 測定技術を用いた DNP-NMR 装置開発を行った。この装置の ^1H と電子スピンの共鳴周波数は、700MHz と 460GHz である。本 DNP-NMR 装置開発では、これまでの超高感度 DNP-NMR 装置の感度性能を大幅に向上させるだけでなく、実用性がある装置を製作することも重視した。例えば、極低温ヘリウムガス循環装置を用いて液体 He を不要として、安定で経済的な長時間運転を可能にした。この極低温ガス供給システムの下で高分解能固体 NMR 実験を行うために約 30K でのマジック角試料回転を行える NMR プロブ開発も行った。また別途開発したサブミリ波の周波数可変機構により、従来の超高感度 DNP-NMR 装置の欠点を克服して、静磁場掃引機能のない市販の高分解能 NMR マグネットも利用できるようにした。</p>		
利用実施時期、及び期間	<p>2020 年 4 月 1 日～2021 年 3 月 31 日</p> <p>総利用日数：54 日</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>当初計画どおり・<input type="checkbox"/>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、 ()固体 700MHz、()溶液 400MHz、()溶液 500MHz、 ()溶液 600MHz、()溶液 800MHz、()溶液 950MHz</p> <p>利用期間 1：2020 年 7 月 1 日～2020 年 7 月 17 日 利用期間 2：2020 年 9 月 9 日～2020 年 9 月 25 日</p>	

		<p>利用期間 3 : 2020 年 12 月 2 日 ~ 2020 年 12 月 23 日</p>
		<p>利用装置②</p> <p>・ () 固体 500MHz、() DNP 固体 600MHz、() DNP 固体 700MHz、 () 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 : 20 年 月 日 ~ 20 年 月 日 利用期間 2 : 20 年 月 日 ~ 20 年 月 日 利用期間 3 : 20 年 月 日 ~ 20 年 月 日</p>
その他の 利用施設		<p>※4 NMR 施設以外の装置、支援などを利用した場合は記載してください</p>
成果の 概要	<p>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>	<p>※申請書との整合性にご配慮ください。</p> <p>高磁場高分解能 NMR 法は分子の構造解析方法として極めて重要であるが、感度が低いという弱点がある。近年、NMR 法の感度を向上させる技術のひとつとして、DNP (動的核偏極) 法が注目されており、本開発チームはこれまでに世界最高性能のマジック角試料回転 DNP-NMR 法の開発に成功している。本課題では、極低温検出法と極低温高磁場でラジオ波とサブミリ波の多重パルス照射により、開発当初の 100K における DNP で得られた NMR 感度を、さらに 100 倍以上向上した装置を開発することを目標にした。これに対して、2020 年度に本課題では、極低温検出器も新たに導入して 580 倍の感度向上を達成した。また、本法により核スピン超偏極を実現させることによって初めて検出可能になるスピン相関状態を観測して、NMR 分光に応用した。本法によって、生体分子や材料界面の原子分解能構造解析をより高感度に行えることを実証し、将来的なプラットフォームへの導入と活用を目指す。</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>(1) 高磁場極低温 DNP による高分解能 ^{13}C-NMR の感度向上 ヘリウムガス閉鎖システムによる極低温での試料回転機構について、直径 3.2 mm のローターに対して、温度 25 K で目標の 9kHz 回転数を越える 12kHz 回転数を達成した。サブミリ波の高効率な伝送と試料回転およびラジオ波強度の安定化を図ることにより、25K で DNP による高感度高分解能固体 NMR の測定ができることを実証した。以前の開発で得られた感度向上をさらに 100 倍向上させることを目標にした。これに対して本年度、感度 S/N 向上は総計 580 倍であった。この内訳は極低温高速回転により 5 倍、低温ノイズ抑制により 5 倍、極低温 DNP により 16 倍、高磁場でのサブミリ波二重共鳴法の効率化により 1.5 倍で、これらの総計として得られた。またこれまでの 100K の DNP ではメチル基が多くて縦緩和の速い蛋白質の大きな疎水領域の信号増強が困難であったが、25K の DNP はこの点でも感度向上に有利なことを示すことができた。</p> <p>(2) スピン相関状態の検出とその応用 室温 700MHz ^1H-NMR の偏極率 0.006% に対して、低温高磁場 DNP 法によって 7% まで向上させた。これにより偏極成分に関する高温近似が成立しなくなるため $I_z S_z$ など高次の成分が検出可能なほど大きくなる。この成分を、偏極率の直接測定と多量子コヒーレンスの作成に応用できることを実証した。このことを粒子表面の</p>

		<p>選択測定に応用した。これによって、粒子内からの NMR 信号を除いて、表面のみを選択的に NMR 観測できるようになった。試料の中で微量しかない界面部分のみをバルク部分と区別して NMR によって構造解析できるようになる。界面構造は、しばしば材料の機能を決めているので、本方法は材料解析の有用な方法になる。</p>
<p>成果発表</p>		<p>※本課題利用による論文・学会発表・特許（出願中含む）等で本事業に関連する謝辞を記載頂いた成果について、可能な範囲で記載して下さい。</p> <p>（謝辞の記載例【英文】: <i>The NMR experiments were performed at (機関名) of NMR Platform supported by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), Japan.</i></p> <p>【和文】: 本研究の NMR 測定は、文部科学省先端研究基盤共用促進事業「NMR 共用プラットフォーム」の(機関名)を利用しました。）</p> <p>学会発表</p> <p>Toshimichi Fujiwara, Structural analysis of biomolecular complexes by solid-state NMR, Amyloid School – Budapest, Eötvös Loránd University, Hungary, Online, 2020/11/20</p> <p>Toshimichi Fujiwara, High-Field Dynamic Nuclear Polarization for Magic-Angle-Spinning Solid-State NMR at 30 K, NMRS-India-Webinar Series, Online, 2020/12/8</p> <p>論文発表</p> <p>Yoh Matsuki, Takeshi Kobayashi, Jun Fukazawa, Frédéric Perras, Marek Pruski, Toshimichi Fujiwara, Efficiency Analysis of Helium-cooled MAS DNP: Case Studies of Surface-Modified Nanoparticles and Homogeneous Small-Molecule Solutions, <i>Phys. Chem. Chem. Phys.</i>, 2021, 23(8):4919-4926.</p> <p>Yoh Matsuki, Tomoaki Sugishita, Toshimichi Fujiwara, Surface-Only Spectroscopy for Diffusion-Limited Systems Using Ultra-Low Temperature DNP MAS NMR at 16.4 T, <i>J. Phys. Chem., C</i>, 2020. 124, 18609-18614.</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><i>※特に、本課題により得られた NMR 技術を用いた応用について</i></p> <p>阪大蛋白研で開発した装置は引き続き同所で、共用及び応用開発研究に利用する。共用としては、横浜理研など4機関から成る NMR 共用プラットフォームの枠組みで毎年国内から数件の民間企業による有料利用がある。また、共同利用共同研究拠点である阪大蛋白研の共同研究制度を利用して生体系学術利用については無償で実施している。これらを引き続き実施する。この装置共用も通じて先端的な生体分子系や材料系への応用を実施して DNP-NMR の能力の有用性を広く宣伝する。</p> <p>なお、本装置は高額であるので、技術開発としては、本開発した技術を基盤にして 2020 年度から JST A-STEP(本格型)の課題として、拡張性のある普及型の装置開発を実施している。</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>本課題で完成した技術を実現する装置については、引き続き製品化を進める。日本電子(株)では、本装置をプロトタイプとした製品を製造し米国に輸出した実績がある。</p> <p>本開発装置は、その高分解能NMRの感度を約1万倍向上させるものであり、その適用範囲を大きく拡大する。例えば、微量で観測できなかった生体や材料の構成物質の解析を可能にすることで医学・創薬、機能材料分野において、またバイオマスやLi電池成分などの微量解析からエネルギー資源分野において、大きな潜在的ニーズを掘り起こせる。このような応用成果は、本装置納品先のユーザーからも示されるだろう。この分析機器技術の革新により、ライフおよびグリーン・イノベーションなど重要な科学技術課題に、日本の独自技術でいち早く応えられる。これによりNMR市場規模が拡大すると予想される。</p> <p>NMRの感度向上に対する要求は強く、価格が15億円程度して感度向上が2倍であるにかかわらず、1.2GHz級の超高磁場NMR用超伝導磁石の導入や開発が欧米や日本で進んでいる。DNP法はそれに比べ感度向上が現在利用できる最先端高磁場NMRの1000倍を超えるが、価格は1.5億円程度である。このため、今後本開発で極低温高磁場での実用性が示されるとともに普及が進むと考える。ただ、DNP法で測定できるのは固体状態だけなので、既存のNMR法を全て置き換えるものではない。</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><i>※本施設を利用して良かった点、改善してほしい点、提案事項など、施設利用の感想を記載してください。なお複数機関の利用の場合は、どの施設に対する感想かも明記して下さい。</i></p> <p>DNP の応用では、試料調製法の確認のために蛋白研の ESR 装置の共用も考えても良いと思う。</p>
<p>今後の NMR 共用プラットフォームに対する期待</p>	<p>DNP-NMR 実験では、利用料も高額で、試料調製やデータ解析でも方法の理解に基づいて専門的な技術を要求される。ことため専門性のある分析請負会社の仲介を考えると期待される。</p>
<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p><i>※特許取得等の理由により公開の延期を希望する場合は必ず事前に利用機関先の課題担当者にご相談ください。</i></p> <p>なし</p> <p>「あり」の場合理由：</p>

その他	(上記の項目以外でご意見等お願いします。)