

# 微量試料の高感度測定を可能にする 世界最小の固体NMRシステム

チームリーダー 樋岡克哉 ((株)JEOL RESONANCE 技術部 開発グループ 第3チーム・副主幹研究員)

サブリーダー 朝倉哲郎 (東京農工大学大学院共生科学技術研究院・教授)

Keyword

固体NMR、微量試料測定

タイプ 実証・実用化タイプ

開発課題名 極細試料管固体NMRプローブの製品化

■参画機関: 東京農工大学

■開発期間: 要素技術タイプ:平成16~19年度、実証・実用化タイプ:平成20~22年度

## 課題概要

固体NMRは構造生物学、材料化学など多くの分野で用いられ極めて有用であるが、基本的に感度が低いので多量のサンプルが必要であった。これを克服するために、本事業「要素技術プログラム」においてマイクロコイルを用いた超微量の固体NMRプローブのプロトタイプ機を製作し、高感度化に成功している。本開発では、このプロトタイプをベースに、広い測定ニーズに合わせられるように、性能および、耐久性を向上させ販売可能な製品を開発する。

## 得られた開発成果の概要

### ■開発の背景／経緯

固体NMRは、有機・無機材料を始め、生体試料、高分子など幅広い分野で構造解析に利用されている。NMRは原子レベルの分解能で詳細な動的・静的構造を与える。NMRで扱う核スピンのエネルギーは非常に小さく、非破壊というNMRの大きな特徴を与える。その一方で、このエネルギーの小ささは、低い感度というデメリットにもつながる。この問題を克服するために大量の試料がNMR測定には要求される。また、固体NMRにおいては分解能の向上のために、試料を磁場中で高速回転(MAS: magic angle sample spinning)させる技術が用いられている。高速の試料回転を実現するためには、外径の小さい試料管が望ましい。固体NMRにおいては、大量の試料と小さい試料管という相反する要素の妥協が常に要求される。我々は、通常の試料管の1/100程度の容積の非常に微細な試料管を持つシステムを開発することにより、単位試料量当たりの感度を向上させ、また通常の試料管の10倍程度に及ぶ超高速の試料回転により、微量試料の高感度測定を目指した。

### ■開発の成果

我々は、1 mmの世界最小の外径を持つ固体試料管システムを開発した。必要となる試料量はわずか0.8  $\mu$ Lであり、また世界最高速の80 kHzの試料回転が実現される。高速の試料回転は $^1\text{H}$  NMR信号を先鋭化させ、感度の向上と分解能の向上を同時に実現する。図1に生体試料に適用した例を示す。高速の試料回転によりアラニン3量体の $^1\text{H}$  NMRの高分解能測定が可能となり、二つの異なる結晶形を区別することができた。多くの生体試料は大量に用意することが困難であり、0.8  $\mu$ Lという微量で測定が可能な本開発の1 mm MASプローブは有用である。微量測定が有効な場面は材料化学の分野でも多く見受けられる。材料の局所的な欠陥や劣化の解析、また薄膜試料、ファイバー試料の解析において、微量試料の解析が要求される。図2にLED蛍光体の劣化機構解析に用いた例を示す。 $^{27}\text{Al}$  NMRを測定することにより、LED蛍光体が劣化した時の構造変化が観測された。原子レベルの分解能で構造解析が可能でNMRの特徴と、本開発で可能になった微量試料の測定を組み合わせることにより初めて明らかになった成果である。

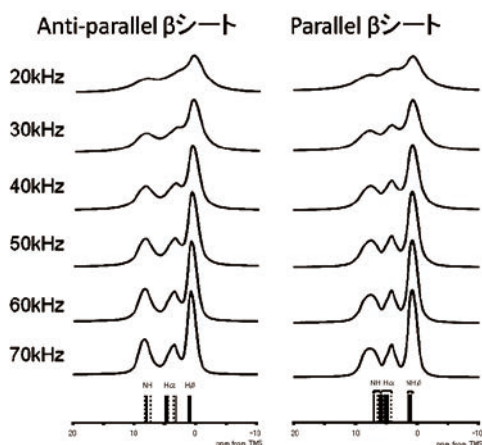


図1 アラニン3量体の<sup>1</sup>H固体NMRスペクトル

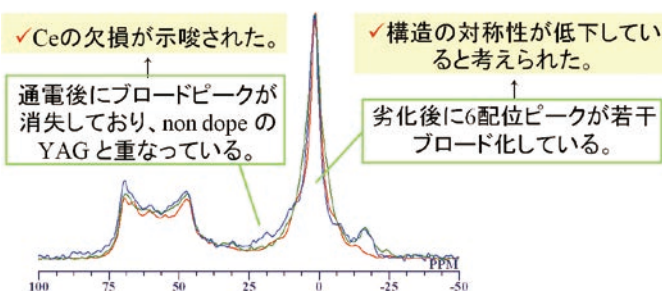


図2 LED蛍光体の<sup>27</sup>Al NMRスペクトル

## 固体NMRプローブの開発により、微量試料による高感度NMR測定が可能に

高速回転・微量試料・強いrf磁場という1 mm MASシステムの特徴を生かし、<sup>14</sup>N NMRの高感度・微量測定を実現した。窒素は、化学・生体・材料など広い範囲で中心的な役割を果たす重要な元素であり、いずれもNMRで観測可能な二つの同位体<sup>14</sup>Nと<sup>15</sup>Nが存在する。自然界に存在する窒素のうち99%以上は<sup>14</sup>Nが占めているにもかかわらず、核四極子相互作用という非常に大きな内部相互作用が測定を妨害するため、<sup>14</sup>N NMRの測定は困難でほとんど行われてこなかった。高速回転による高感度化、大きな内部相互作用を操作する強いrf磁場により、0.8 μLという微量試料ながらわずか数分で<sup>14</sup>N NMR測定が可能となった。図3にジペプチドに応用した例を示す。これまでアクセスできなかった

た<sup>14</sup>Nの情報を通じて、ハイスループットでの構造解析に寄与すると期待している。

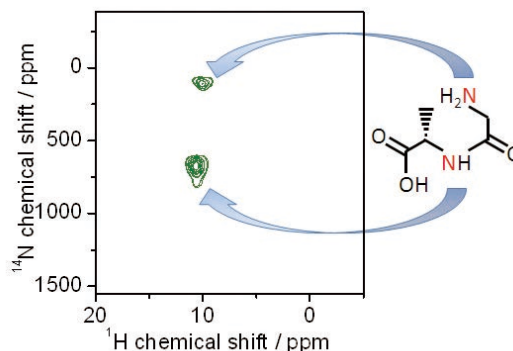


図3 グリシルLアラニンの<sup>1</sup>H/<sup>14</sup>N HMQCスペクトル

### 上記成果の科学技術的根拠

#### 【出願特許】

1. 遠藤由宇生、樋岡克哉、山内一夫、「固体NMR用試料管および固体NMR測定法」、特願2010-85798、2010年4月
2. 遠藤由宇生、樋岡克哉、山内一夫、「固体NMR用試料管および固体NMR測定法」、特願2010-170166、2010年7月
3. 遠藤由宇生、樋岡克哉、山内一夫、「Sample Tube and measurement Method for Solid-State NMR」、12/849,998 USA、2010年8月4日

#### 【発表論文等】

1. Kazuo Yamauchi, Shizuo Yamasaki, Rui Takahashi, Tetsuo Asakura, "Microscopic structural analysis of fractured silk fibers from Bombyx mori and Samia cynthia ricini using <sup>13</sup>C CP/MAS NMR with a 1mm microcoil MAS NMR probehead", Solid State Nuclear Magnetic Resonance, Volume 38, Issue 1, July 2010, Pages 27-30
2. Yusuke Nishiyama, Yuki Endo, Takahiro Nemoto, Hiroaki Utsumi, Kazuo Yamauchi, Katsuya Hioka, Tetsuo Asakura, "Very fast magic angle spinning 1H-14N 2D solid-state NMR: Sub-micro-liter sample data collection in a few minutes", J. Magn. Reson., Volume 208, Issue 1, January 2011, Pages 44-48
3. Yu Suzuki, Akihiro Aoki, Yasumoto Nakazawa, David P. Knight, Tetsuo Asakura, "Structural analysis of the synthetic peptide (Ala-Gly-Ser-Gly-Ala-Gly)<sub>5</sub>, a model for the crystalline domain of Bombyx mori silk fibroin, studied with <sup>13</sup>C CP/MAS NMR", Macromolecules, 2010, 43 (22), pp 9434-9440