

PRESS RELEASE

 2023年7月24日
 理化学研究所
 東京工業大学
 日本電子株式会社

世界最高速で試料回転を行う固体 NMR プローブを開発

—超微量の生体試料を高感度で検出—

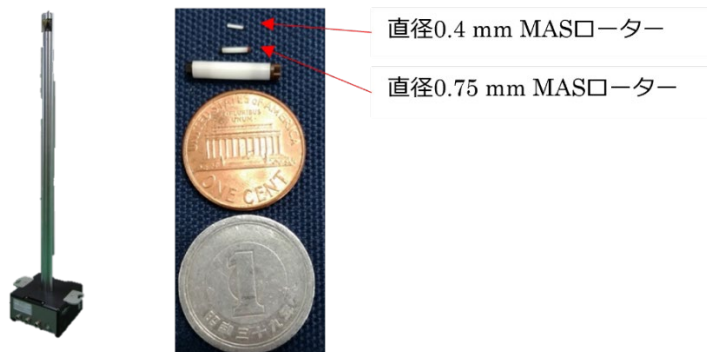
理化学研究所（理研）生命機能科学研究センター先端 NMR 開発・応用研究チームの石井佳誉チームリーダー（東京工業大学生命理工学院教授）、東京工業大学生命理工学院の松永達弥助教（理研生命機能科学研究センター先端 NMR 開発・応用研究チーム客員研究員）、日本電子株式会社 NM 事業ユニット NM 開発部第 2 グループの遠藤由宇生副主査、根本貴宏グループ長、同第 1 グループの蜂谷健一グループ長、科学技術振興機構未来社会創造事業大規模プロジェクト型の小野通隆プログラムマネージャー（理研生命機能科学研究センターセンター長室高度研究支援専門職）らの共同研究グループは、固体核磁気共鳴（NMR）法^[1]において、世界最高速となる 180kHz の回転速度による超高速マジック角回転（MAS）^[2]が可能な検出器（プローブ^[1]）を開発しました。

本研究成果により、超微量の生体試料やナノ材料の高感度^[3]検出、アルツハイマー病に関わる脳由来の微量なアミロイド β ペプチド^[4]の解析など、先端研究の進展が期待できます。

超高速 MAS は NMR プローブ中の固体試料を高速回転させ、その分子構造や物性を高分解能^[3]・高感度で観測する手法です。

今回、共同研究グループは、直径約 0.4mm の微小な試料管を高速の気流で回転させる MAS 装置を備えた NMR プローブを開発し、従来の世界記録(160kHz)を上回る 180kHz の高速回転における固体 NMR 測定を成功させました。180kHz は毎秒 18 万回転に相当し、試料管外周の速度は 813km/h と新幹線の 2.5 倍以上に達します。この超高速回転により、従来比で 2 倍程度の感度向上が得られ、微量タンパク質試料の 2 次元 NMR^[5]測定にも 160kHz 条件下で成功しました。

本研究は、2023 年 7 月 9 日より英国グラスゴーで開催された国際会議『Euromar 2023』の講演で発表されました。



今回開発したプローブ（左）と直径 0.4mm の MAS ローター（試料管）（右）

背景

核磁気共鳴（NMR）法は、強い磁場中に置かれた試料中の原子核の核スピンの電磁場に対する共鳴現象（核磁気共鳴現象）により、物質の分子構造や物性を解析する方法です。固体 NMR 法は固体状態の材料や難溶性の生体試料などの構造解析のために、生命科学、医薬、有機化学、食品、材料科学といった幅広い分野で利用されています。固体 NMR 法では、磁場に対し 54.73 度傾けた軸に沿って試料を回転させるマジック角回転（MAS）と呼ばれる方法で高分解能 NMR を達成します。

タンパク質など炭素（C）と水素（H）を含む試料では、天然存在比約 99% の ^{12}C を観測できないため、安定同位体である ^{13}C を試料に取り込ませて観測する方法がこれまで主流でした。しかし、近年の高速 MAS 技術の発展に伴い、 ^1H の計測性能が向上したため、 ^{13}C の観測よりも ^1H を観測する方がより高感度・高分解能で測定できるようになりました。 ^1H の固体 NMR の測定性能は、MAS で試料を回転させるときの回転速度が速くなるほど向上し、より微量の試料に対する測定が可能になります。このため、より高速で試料回転する固体 NMR 装置の開発が数十年にわたって進められてきました。

100kHz（毎秒 10 万回転に相当）超の高速 MAS を達成する NMR プロブは、2012 年に株式会社 JEOL RESONANCE（現：日本電子株式会社）が初めて開発に成功しました^{注 1)}。その後、日米欧を中心に、より速い速度で回転する MAS 装置の開発が進められ、現在は欧州に拠点を置く研究グループが 150kHz の高速 MAS 装置の商用化に成功しています。また 2022 年には、欧州に拠点を置く企業が 160kHz の高速 MAS 装置の開発を発表しました。

注 1) 2012 年 4 月 12 日株式会社 JEOL RESONANCE ニュースリリース「世界最高速・最小固体 NMR（核磁気共鳴）装置プロブ（検出器）の販売開始」
<https://www.j-resonance.com/corporate/wp-content/uploads/2013/04/topics20120412.pdf>

研究手法と成果

共同研究グループは超高速 MAS 技術をさらに高度化し、世界初の 180kHz（毎秒 18 万回転に相当）の回転速度を実現しました。微細加工により、一般的なシャープペンシルの芯より細い直径約 0.4mm の中空のセラミック製の試料管（ローター）を開発しました（図 1）。この試料管に試料を詰め、音速（約 340m/s）に近い速度の圧縮ガスを試料管の両端にあるキャップの一方に取り付けた羽根に吹き付けることで、超高速回転を実現します。試料管全体は圧縮ガスを使ったエアベアリング⁶⁾で浮いた状態になっており、周囲の壁との摩擦なく回転します。

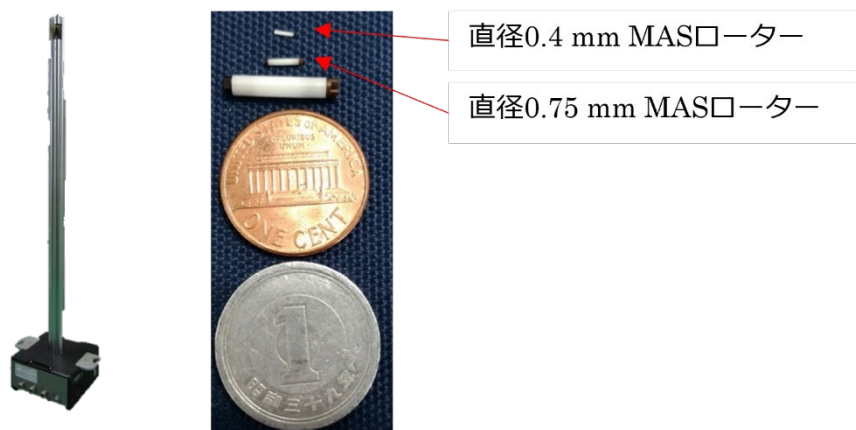


図1 今回開発したプローブ（左）と直径 0.4mmMAS ローター（試料管）（右）

左は、180kHz の回転速度を実現したプローブ。右の一番上は、微細加工により作製した 180kHz 用の直径約 0.4mm の MAS ローター。上から二番目は 2012 年に初めて 100kHz を越えて開発に成功した直径 0.75mm の MAS ローター。上から三番目は直径 2.5mm の MAS ローター。

このプローブを用いた固体 NMR 実験を理研の共鳴周波数 900MHz（メガヘルツ）^[7] の NMR 装置で行い、回転速度に比例する感度と分解能の大幅な向上が示されました。図 2 に、MAS の回転速度を 24kHz から 180kHz まで上げたときのアミノ酸試料（L-アラニン）の ¹H 固体 NMR スペクトルを示します。L-アラニンに含まれる水素は異なる 3 種類の分子内環境（NH₃⁺、CH、CH₃）にあり、NMR スペクトルではこの違いは分離した三つのピークとして示されます。

24kHz のスペクトル（紫）は、¹H-¹H 間の強い磁氣的相互作用のために信号の線幅が非常に広くなり、CH のピークが確認できません。100kHz で得たスペクトル（緑）は、この相互作用が超高速回転により取り除かれるため、線幅が狭くなり、信号強度が向上して 3 種類全ての水素の信号が得られています。180kHz のスペクトル（赤）では、さらに感度と分解能が大幅に向上し、100kHz の 2 倍程度の信号強度が得られています。また、測定の手時間は感度の 2 乗に比例するため、180kHz での測定は 100kHz の 4 分の 1 の時間で可能になります。

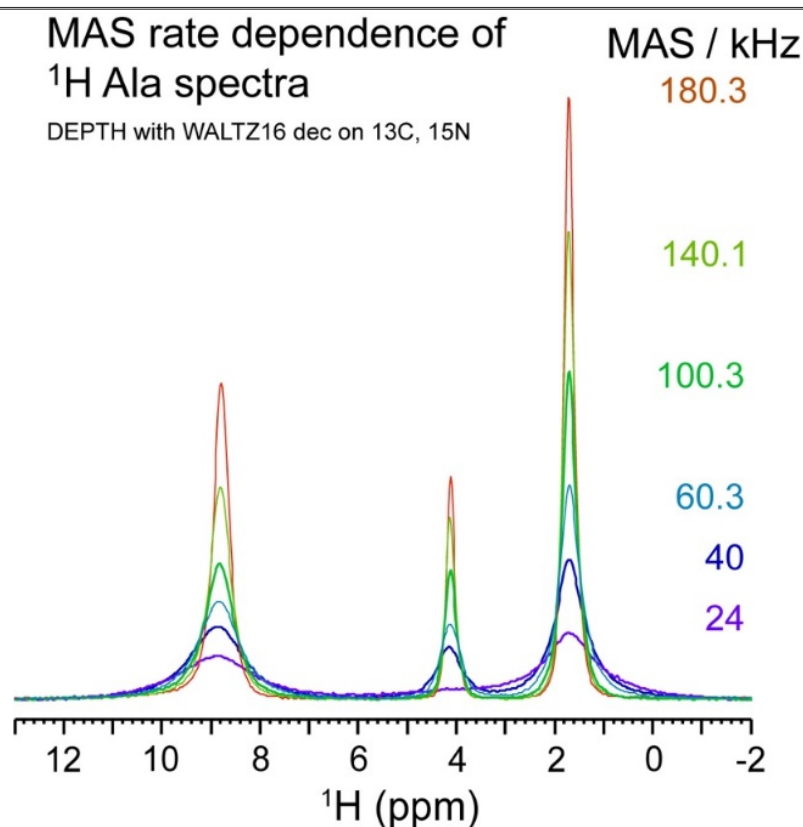


図2 L-アラニンの ^1H MAS 固体 NMR スペクトルの回転速度依存性

縦軸は信号強度、横軸は線幅を示す。右の数字は MAS 回転数 (kHz)。スペクトルは、回転数によって色付けされている。ピークは左より、 NH_3^+ 、CH、 CH_3 の 3 種類の水素核からの固体 NMR の信号を示している。

また、160kHz の超高速 MAS 条件下において、タンパク質試料の 2 次元 NMR の測定にも成功しました。さらに、モデルタンパク質である GB1 試料の固体 NMR 測定にも初めて成功しました (図 3 右の赤いスペクトル)。タンパク質試料の場合は変性を防ぐために冷却が必要なことから、冷却ガスの影響で安定して超高速回転させることがより難しいにもかかわらず、このスペクトルも 80kHz の MAS を用いたスペクトル (図 3 左の緑のスペクトル) に比べて分解能と感度の大幅な向上が確認されました。測定時間は 18 分間であり、微量のタンパク質試料を短時間で測定できることも示されました。

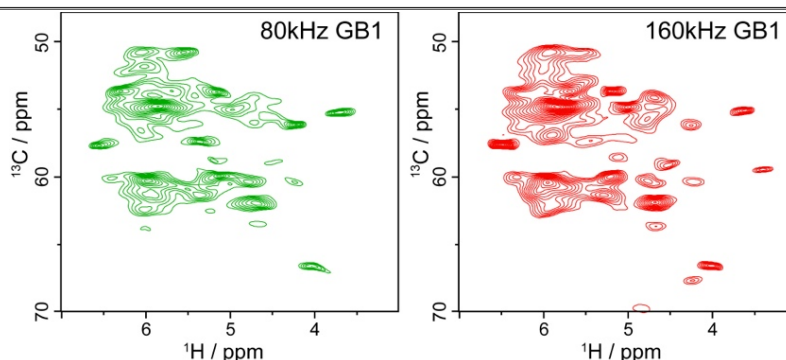


図3 モデルタンパク質 GB1 試料の固体 NMR 測定結果

固体状態（微結晶状態）の GB1 タンパク質（56 アミノ酸）に対して、80kHz（左）、160kHz（右）の回転速度の MAS で得られた ^1H - ^{13}C 2次元 NMR スペクトル。試料は有機溶媒を含んだ微量の水溶液に浸されており、溶液内のタンパク質と同等な構造が固体状態で保持されている。スペクトルは、タンパク質の主鎖を構成する $^{13}\text{C}_\alpha$ とそれに結合する $^1\text{H}_\alpha$ の化学シフトを紐づけており、これによって両者の帰属を明確にできる。一般的に、固体 NMR の ^1H スペクトルは線幅が数十 ppm を超える非常に幅広なスペクトルとなるが、本実験では、直径 0.4mm の細径試料管に詰めた固体試料を毎秒 16 万回転させることで線幅を大幅に細くし、溶液 NMR スペクトルに近いスペクトルを得ている。分解能と感度の増加のため、80kHz のスペクトルよりも多くの分離した信号が観測されている（右）。

今後の期待

共同研究グループは、今回開発した超高速 MAS 技術を用いて、アルツハイマー病に関わるアミロイド β ペプチドの超微量試料による構造解析などの先進研究を進めていきます。

また、今回の開発で得られた超高速 MAS プローブと、最近開発したアジア最高磁場の 1.01GHz（ギガヘルツ）^[7]（23.7 テスラ）NMR 装置^{注2)} や現在世界最高磁場を目指して開発中である 1.3GHz（30.5 テスラ）NMR 装置を組み合わせる予定です。

注2) 2022年10月25日プレスリリース「世界一コンパクトな超1GHzのNMR装置の開発に成功」
https://www.riken.jp/press/2022/20221025_3/index.html

学会発表情報

<タイトル>

New advances toward development of a 1.3 GHz NMR system: 1.01 GHz NMR system and MAS beyond 150 kHz

<著者名>

Y. Yanagisawa, Y. Suetomi, R. Piao, T. Yamazaki, M. Ono, M. Yoshikawa, M. Hamada, K. Saito, H. Maeda, T. Matsunaga, J. Hamatsu, Y. Endo, T. Nemoto, K. Hachitani, and Y. Ishii

<学会名>

Euromar 2023 (July 9-13, 2023, Scottish Events Campus, Glasgow, United Kingdom)

補足説明

[1] 固体核磁気共鳴 (NMR) 法、プローブ

核磁気共鳴 (NMR) 法は、磁場中に置かれた原子核の核スピンの共鳴現象 (核磁気共鳴現象) により、物質の分子構造や物性を解析する方法。分子の相互作用などの情報も得られるため、生命科学、医薬、化学、食品、材料物性といった幅広い分野で利用されている。磁気共鳴画像 (MRI) 法でもこの共鳴現象が用いられている。測定対象となる物質を溶媒に溶かす溶液 NMR 法に対し、固体状態の物質を測定する NMR 法を固体 NMR 法と呼ぶ。プローブは NMR 信号を得るための検出器で、感度や分解能を左右する NMR 装置の心臓部と考えられている。NMR は Nuclear Magnetic Resonance の略。

[2] マジック角回転 (MAS)

磁場に対し 54.73 度傾けた軸に沿って試料を回転させること。54.73 度はマジック角と呼ばれ、 $3\cos^2\theta - 1 = 0$ を満たす角度 θ である。固体 NMR 法において、この角度で試料を回転させると、固体試料に特有な異方的なスピン相互作用を取り除くことができ、溶液 NMR 法と同様の高分解能スペクトルが得られる。MAS は magic angle spinning の略。

[3] 感度、分解能

感度は装置や測定法の敏感さを比較するための指標で、一定の実験時間でどのくらい強い信号が測定できるかを表す。NMR では、信号強度 (s) をノイズ信号強度 (N) の 2 乗平均の平方根の値 (σ_N) の 2 倍で割った値 ($s/2\sigma_N$) を信号雑音比 (S/N 比) と呼び、S/N 比を測定時間 (t) の平方根で割った値 ($s/\{2\sigma_N t^{1/2}\}$) を感度と定義している。従って、S/N 比を 2 倍にするためには測定時間が 4 倍かかるため、NMR の感度が 2 倍になることは測定時間が 1/4 になるのと同義である。分解能は、周波数の近い信号をどれだけ分離できるかの指標であり、L-アラニンなどの標準試料の線幅を得ることで見積もることができる。線幅が狭いほど数多くの信号を分離できるため、分解能が高い。

[4] アミロイド β ペプチド

アミロイド β 前駆体タンパク質からプロテアーゼにより切断されて産生される生理的ペプチド。アルツハイマー病で見られるアミロイド斑 (老人斑) の構成成分として発見されたことから、この過剰な蓄積が発症の引き金と考えられている。A β はアミノ酸の数で種類が分類され、40 アミノ酸残基からなる A β 1-40、42 アミノ酸残基からなる A β 1-42 が同定されている。そのうち、A β 1-42 が最も神経毒性が高いと考えられている。

[5] 2 次元 NMR

通常の 1 次元 NMR では、横軸が周波数、縦軸が共鳴強度のスペクトルとして表される。2 次元 NMR は、隣接する官能基や互いに作用し合う官能基などの相互作用を二つの周波数の相関として表すことで測定する手法である。高分解能の C-H 相関 2 次元 NMR では、隣接した炭素と水素の周波数の情報を得ることで、C-H のつながりなど化合物の構造解析が可能となる。スペクトルの情報は 2 次元に展開される。

[6] エアベアリング

回転軸を支持する仕組み。軸受に圧縮空気を送り込み、回転子を浮上させる。

[7] MHz（メガヘルツ）、GHz（ギガヘルツ）

ヘルツは周波数の単位であり、核磁気共鳴現象においては電磁場の共鳴周波数を指す。共鳴周波数は磁場強度に比例し、例えば 2.35 テスラの磁場において、水素核は 100MHz の周波数で共鳴する。1 テスラは、ネオジム系などの強力永久磁石の表面磁場と同等の強さである。NMR 装置では、慣習的に磁場の強さをメガヘルツ (=100 万 Hz) で表現するが、近年の高磁場化に伴い、1,000MHz 以上の装置に対してギガヘルツ (=10 億 Hz) の表現もしばしば用いられる。

研究支援

本研究は科学技術振興機構（JST）未来社会創造事業大規模プロジェクト型「エネルギー損失の革新的な低減化につながる高温超電導線材接合技術」研究領域の研究課題「高温超電導線材接合技術の超高磁場 NMR と鉄道き電線への社会実装（研究代表者：小野通隆）」（JPMJMI17A2）の助成を受けて行われました。

発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせください。

理化学研究所 生命機能科学研究センター 先端 NMR 開発・応用研究チーム
 チームリーダー 石井佳誉 （イシイ・ヨシタカ）
 （東京工業大学 生命理工学院 教授）

東京工業大学 生命理工学院
 助教 松永達弥 （マツナガ・タツヤ）
 （理化学研究所 生命機能科学研究センター 先端 NMR 開発・応用研究チーム
 客員研究員）

日本電子株式会社 NM 事業ユニット NM 開発部
 第 2 グループ
 副主査 遠藤由宇生 （エンドウ・ユウキ）
 グループ長 根本貴宏 （ネモト・タカヒロ）
 第 1 グループ
 グループ長 蜂谷健一 （ハチタニ・ケンイチ）

科学技術振興機構 未来社会創造事業 大規模プロジェクト型
 プログラムマネージャー 小野通隆 （オノ・ミチタカ）
 （理化学研究所 生命機能科学研究センター センター長室 高度研究支援専門職）

<機関窓口>

理化学研究所 広報室 報道担当
 Tel: 050-3495-0247
 Email: ex-press [at] ml.riken.jp

東京工業大学 総務部 広報課
Tel: 03-5734-2975 Fax: 03-5734-3661
Email: media [at] jim.titech.ac.jp

日本電子株式会社 経営戦略室 コーポレートコミュニケーション室 広報・ブランドグループ
Tel: 042-542-2106 Fax: 042-546-9732
Email: ir [at] jeol.co.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。
