

## 核磁気共鳴について Nuclear Magnetic Resonance

日本ブルカー(株) NMR アプリケーション部 佐藤 一  
Bruker Japan Co., Ltd., NMR Application  
Hajime SATO

It is possible for NMR users to obtain detailed structural information on organic compounds, natural products, proteins, nucleic acids and so on. The development of the actively self-shielded magnet (300 to 700 MHz), the ultra-stabilized magnet (800 and 900 MHz), the probeheads and the digital technology in NMR instruments gives a high sensitivity and a high resolution spectrum. In addition to a conventional probehead, there are several choice for achieving the purpose. First, the cryo probe equipped with the detection coils and the preamplifier under cooling by helium gas gives about 4 times more sensitive than the conventional probe. Especially, it is easy for natural products to obtain the  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  correlation spectrum and for proteins the  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  correlation spectrum without stable-isotopic labeling. Second, flow cell type probe has a high filling factor and is useful for LC-NMR and LC-NMR/MS, which coupled on a liquid chromatography and a mass spectrometry, and also for a high throughput screening on combinatorial chemistry with a liquid handler. Third, HRMAS method is suitable for a combinatorial sample with the resin as well as inhomogeneous samples, for example, food, cosmetics, synthesized polymer and tissue. This could extend the potential of the NMR sample. Fourth, a lot of pulse experiments for biological macromolecule have been published. In order to achieve the experiments, triple- and quadruple resonance probeheads were delivered. Fifth, solid-state NMR is important in the field of materials science. This method can investigate a nature of solid.

NMR has been established as a powerful tool for a structural analysis and will develop much more in the next century.

NMR (Nuclear Magnetic Resonance)は原子1個の分解能をもつ分析法である。X線結晶解析によっても原子1個の分解を与える。双方の原理的な違いからNMRにはNMR特有の特徴がある。X線は原子核のまわりの電子雲を利用した回折法である。しかし電子雲が薄い水素原子を分析する場合には不利な場合があると考えられる。また原子核をとりまく電子雲の厚さが似ている場合、たとえば炭素原子と窒素原子を区別することはやさしくない。これに対してNMRは原子核を対象とする分光法であるので水素原子を分析することは容易である。また炭素原子と窒素原子の共鳴周波数は全く異なるので厳密に識別することができる。現在NMRは構造解析に携わる研究者にとっては必須の装置であり、また非常に広範囲にわたる研究分野で貢献している。研究者はNMRとX線の特徴をよく理解し、うまく組合わせて利用する必要があるだろう。

近年のソフトおよびハードウェアの発達に伴い、NMRスペクトルの測定時間およびその解析時間は短縮されている。特にハードウェアにおいては超伝導磁石の発達がめざましい。現在漏洩磁場の非常に少ない自己遮蔽型磁石は標準的に用いられており、実験環境の安全性および省スペース化に寄与してい

る。一方この投稿が掲載される頃には 900 MHz( $^1\text{H}$  の共鳴周波数)の装置が世に出ているであろう。デジタルロック、デジタルフィルタ、オーバーサンプリング、およびデジタルクアドラチャディテクションなどの技術により高感度ならびに低ノイズ化に成功している。またさまざまな用途に応じて種々の検出器が開発されている。最も標準的な溶液用検出器は 5 ミリ径のもので  $^1\text{H}$ -、 $^{13}\text{C}$ -、 $^{19}\text{F}$ -および  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルなどをルーチン的に測定することができるようになってきている。その結果、低分子量化合物におけるおのおの核種の NMR シグナルを原子レベルで分離して帰属することができる。さらに解析を進めることにより原子間距離および角度情報を得ることができる。また検出コイルの部分をヘリウムガス(20K)で冷却したクライオプローブを用いることにより感度をおよそ 4 倍向上することに成功している。感度が 4 倍向上することは測定時間が 1/16 に短縮されることになる。これにより  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  相関スペクトルを従来に比べるとはるかに短時間に測定できるようになり、未知化合物の炭素骨格のネットワークを迅速に調べられるようになった。天然存在比の  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  相関スペクトルを数時間以内に測定することもできる。

溶液状態の化合物を NMR 解析する場合、精製した試料を用いることが望ましいと言えるが効率化ならびに不安定な化合物の場合には液体クロマトグラフ(LC)を行ないながら NMR スペクトルを測定する必要がある。この問題を克服するために LC-NMR または LC-NMR/MS が開発された。この方法を用いることにより、混合物を LC で分離しながら NMR スペクトルを得ることができるので試料を濃縮したのち重水素化溶媒に溶かして NMR 試料管に調製するという行程は不要となった。ここで質量分析にかけることも可能となっている。さらにフローセルタイプの検出器を装備した NMR とリキッドハンドラとカップルさせて行なう方法も開発されている。これは近年盛んに行なわれているコンビケムに対応するものである。96 穴に合成された試料をリキッドハンドラによって NMR の検出器に送り込むシステムで数分毎に  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルを測定することができる。またコンビケムの固相合成において樹脂が結合した状態の試料では通常高分解能スペクトルを得ることはやさしくない。HRMAS 法は樹脂が結合した不均一な試料において試料管を高速回転(5 kHz くらい)することにより NMR シグナルを先鋭化することができる。その結果、固相合成の各段階毎に化合物を同定したり、収率を確認することに役立っている。そのほかに HRMAS 法は食品、化粧品、合成高分子、生体組織や細胞などの試料にも応用されている。すなわち NMR では苦手とされている溶解性の低い不均一な試料において威力を発揮している。

試料の分子量増加に伴って NMR シグナルが狭い範囲に重なり合って観測されるようになりその解析を困難にする。この問題を克服するために多核種多次元 NMR 法が開発されている。特にタンパク質ならびに核酸においては安定同位体標識法が進歩しており、数え切れないほどのパルステクニックが発表されている。これにより分子量 3 万程度の生体高分子の  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$  および  $^{15}\text{N}$  の全シグナルを帰属することはルーチンワークとなってきた。そして原子間距離情報および角度情報から生体高分子の三次元構造が構築される。

固体 NMR 法は試料をあるがままの姿で見たい場合に利用されている。試料は溶液ではなく固体そのものなので固体物性を直接調べることができる。また溶解したくても溶解しない試料の場合、たとえば合成高分子もしくは膜タンパク質などに有効であると考えられる。

以上のように NMR はさまざまな分野で活躍している。現在 NMR は分析装置としてはかなり成熟している部分もあるが新世紀に向けてさらに発達していくと思う。