

700MHz NMR 設備利用者説明会

理学研究科 数理分子生命理学専攻
楯 真一

Bruker Avance 700MHz (AV700)

- **Cryogenic probe**
 - 高感度測定
- **4チャンネル照射システム**
 - ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^2H の同時照射可能
- **^1H , ^{13}C 核直接観測**
 - ^{13}C 核の高感度測定のために検出器交換不要
- **測定温度高度安定化装置**
 - $0 \sim 40^\circ\text{C}$ の範囲の高度な温度安定性 $< 0.1^\circ\text{C}$
- **自動窒素回収装置**
 - 定期的な窒素充填不要. 1週間を超える連続測定が可能

Cryogenic probe

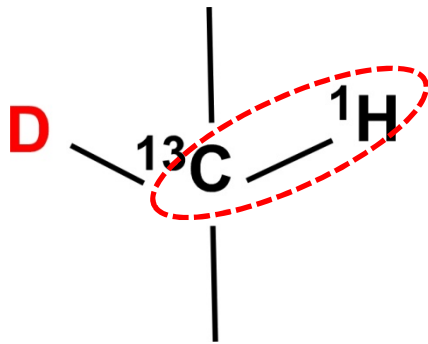
- 検出コイル・プレアンプを含む検出系を液体He温度で冷却
 - 熱雑音を低下
 - 検出コイルのQ値の向上
 - 実効的に1.2～1.4倍の高感度化

利点：積算回数半分で同程度の感度
検出限界の低減.

今まで積算しても観測できなかったシグナル
の検出が可能になる

4 チャンネル照射システム

- ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^2H 同時照射可能
 - ^1H - ^{13}C 相関のみならず ^1H - ^{15}N , ^1H - ^{15}N - ^{13}C 相関分光が可
 - タンパク質構造解析には必須 (3重共鳴法)
 - 重水素標識化合物を対象とした ^1H - ^{13}C 相関スペクトルの高感度化 (**重水素デカップル**)



第2種スカラー緩和の抑制による
 ^{13}C - ^1H 相関シグナルの増幅

^1H , ^{13}C 核直接測定

- Inverse mode検出器にも関わらず, ^{13}C 核測定にも対応した検出器(TCI-probe)
 - ^{13}C 核観測にも検出器冷却の効果がある.
 - タンパク質でも ^{13}C 核検出の多重共鳴実験が可能

高精度温度安定装置

- 0.1°C以下の精度でNMRサンプル温度を制御
- 0°C ~ 40°Cの範囲で制御可能. 室温以下の試料温度でも測定可能
 - Cryogenic probeの利用限界40°C

注意:

– 20°Cの冷却エアを送り試料を冷やすためヒーターを入れずに測定すると試料管が破裂して検出器を破損する!

自動窒素回収装置

- 従来のNMRマグネットの維持には、1週間に1回の液体窒素充填が必要
- 自動で窒素ガスを液化する装置をつけているために1年間液体窒素充填不要
 - 1週間以上の連続測定が可能となる

液体Heは約50日間に1回充填

実施可能な測定

- **タンパク質立体構造解析#**
 - 2D NOESY/TOCSY/DQF-COSY
 - 3D Triple resonance
(normal/non-linear sampling)
- **タンパク質スピン緩和解析#**
 - T_1/T_2 /hetNOE, R_2 dispersion, cross-correlation
- **合成高分子構造解析**
 - HSQC, HMBC, NOESY, ROESY, TOCSY

スペクトル解析用のWSを整備

利用方法

- **測定依頼（設備ネットワーク予約システム利用）**
 - － 測定相談
 - － 測定・測定データ送付
- **試料の準備(利用者負担)**
 - － タンパク質試料
 - シゲミマイクロ試料管(水系溶媒 10% D₂Oロック用)
 - 有機溶媒(CDCl₃, DMSO)に溶かしたペプチドなどは通常の5φ試料管が必要
 - － 合成試料
 - 通常の5 φ試料管

利用前準備

- 予備的測定の必要性

- 700MHzNMRの特性を生かすために、高磁場測定の必要性が高いものを中心に**長時間測定**を中心する。
- 実験条件設定は、JEOLの600MHz/500MHzなどで事前に準備しておくことを推奨する。

- 霞600MHzの利用(特にタンパク質試料)

- 霞キャンパスに導入した600MHz装置でもタンパク質の構造解析・緩和解析に必要な測定は可能。解析が容易な試料であれば霞600MHzの利用が便利。
- ペプチド構造解析は600MHzの方が測定し易い。
- Bruker DRX600 (TXI probe, non-cryogenic triple probe)

補足

- **安定同位体標識タンパク質立体構造解析**
 - **NMRデータ測定**
 - 本学設備で支援
 - **NMRデータ処理・スペクトル解析には特定のソフトウェアツールが必要**
 - Sparky/Nmrview etc. 多くはfreeで手に入るが使い込むには補助ツール・技術支援が必要
 - **立体構造計算にはある程度のUPCパワーを持つPC-WSが必要**
 - 構造計算プログラムにはfreeと有料の2種類あり, いずれも相応の技術的支援は必要

利用に当たっての手続き等

- 研究設備サポートセンター 古寺さん