

令和元年 9 月 30 日

NMR 個別研修（岩手大学）

【主催】：自然科学研究機構 分子科学研究所（大学連携研究設備ネットワーク）

【開催日】：令和元年 9 月 4 日(水)13:00～9 月 6 日(金)15:00

【開催場所】：岩手大学 理工学部 地域連携推進センター棟

【講師】：北海道大学 木村悟氏

【プログラム】

9 月 4 日（水）

13:00～ 2次元 NMR 測定の流れとパラメータの解説
(HMQC,HSQC,HMBC,COSY,NOESY について)

15:00～ 2次元 NMR データ処理の流れ

9 月 5 日（木）

10:00～ 平面構造解析のための 2次元 NMR 測定
(HSQC,HMBC,COSY)

13:00～ 2次元 NMR データ処理
立体構造解析のための NMR データ処理

9 月 6 日（金）

10:00～ 立体構造解析のための NMR
(T1 簡易測定、差 NOE、1D-NOESY、2D-NOESY)

12:00～ NMR 装置のメンテナンス

14:00～ 立体構造解析のための NMR データ処理

※当初予定のプログラムから変更あり

【報告】

1 日目は、はじめに 2次元 NMR 測定の流れについて解説していただいた。測定の流れとしては、まず 1D NMR の測定を行い、次に 2D NMR の測定、その後データ処理を行う。2D NMR を正しく取得するためには、1D NMR 測定で装置の調整、状態を確認することや、1D NMR 測定する際に 2D NMR 測定に必要なパラメータを確認すること、1D NMR と比較して感度が悪いことから 2D NMR 測定ではスピニングを行わないこと、X 軸・Y 軸が投

影ウィンドウであることから高分解能 1D NMR スペクトルを利用することがわかった。

続いて、1D NMR 測定のパラメータの意味や設定について学んだ。基本的にはデフォルトの条件で良いが、観測中心と観測幅や待ち時間 (relaxation_delay)、レシーバゲインなどはサンプルによって適切にパラメータを設定する必要があることがわかった。

平面構造解析のための 2D NMR については、各測定法に必要なパラメータについて教えていただいた。HMQC と HSQC において一般的な条件で得られるスペクトルは同じであるが、 ^{13}C の化学シフトが密集している場合は HSQC を使用したほうが良いこと、構造確認作業では測定時間の短い HMQC を利用したほうが良いことなど、使用目的によって測定法を変えることを学んだ。

1D NMR データの処理では、Fourier 変換前のウィンドウ関数処理やゼロフィリングについて教えていただいた。ブロードニングファクタを調整することで分解能を良くすることや、FID (Free Induction Decay) を見ながら適切な関数型に変更することで、スペクトルの分離を向上させる場合があることがわかった。また、2D NMR データでのウィンドウ関数処理は、絶対値モードなら sin bell 関数、位相検出モードなら指数関数を利用するケースが多いことがわかった。

その後、立体構造解析のための NMR として NOESY について説明していただいた。分子全体の構造や立体異性体の解析が可能であり、分子量によって NOE 測定法を適切に変えることや測定法の特徴、NOE 測定の流れを学んだ。NOE が観測できない場合の対処法として、測定温度や溶媒を変更する、共鳴周波数を変える、ROESY 測定を行ってみることを教えていただいた。

2 日目は、説明していただきながら、試料として調製済みのストリキニーネ溶液 (分子量: 334, CDCl_3 溶媒) を用い、実際に平面構造解析のための測定を行った。測定前の準備として、2D NMR 測定に入る前に 1D NMR 測定からはじめた。ホルダーにサンプル管をセットする際、キムワイプなどでサンプル管の汚れを拭き取ったほうが良いと指導を受けた。また、レシーバゲインの数値やシム調整の確認をし、測定、データ処理を行った。その後、COSY や HMQC、HMBC の測定を行うためにスピンを停止し、LOCK 信号メーターの値が 30% 以上減衰しないことを確認した。それぞれのパラメータはほとんど初期条件のままで、確認していたレシーバゲインの数値を入力し、2D NMR 測定を行った。測定後は、nD プロセッサによるデータ処理を行い、ゼロフィリングやウィンドウ関数、高分解能 1D NMR の貼り付け方、等高線の調整方法について教えていただいた。また、位相検出型 2D NMR では位相補正や t_1 ノイズの除去方法対象処理について学んだ。

測定や解析についての説明が終了後に、受講者それぞれが指導を受けながら高分解能 1D NMR の貼り付けや等高線の調整などの解析を行った。

また、翌日の実習に向けて立体構造解析のデータ処理について学んだ。

3日目は、試料として2日目も使用したストリキニーネ溶液を用いて、実際に立体構造解析として NOESY の測定を行った。通常は温度を変更して測定するが、今回は時間の都合上、温度変更を行わずに測定した。はじめに、 ^1H 測定を行い、 T_1 簡易測定、差 NOE 測定、1D NOESY 測定、2D NOESY 測定の順序で測定し、それぞれデータ処理を行った。NOE 測定では T_1 値を利用するため T_1 簡易測定が必要であり、パラメータの設定において relaxation_delay は 30[s] (最も長いとされる T_1 の 10 倍の値) にしておくの良いことを学んだ。また、1D/2D NOESY 測定をする際の設定で、求めた T_1 を mix_time に入力し、測定を行った。

測定終了後に装置の状態を見ていただき、プローブの清掃が不十分であることが分かったため、プローブの取り外し方や綿棒とエタノールを使用したメンテナンスの方法についても教えていただいた。

最後に、NOE 測定 of データ処理を受講者がそれぞれ行った後、質疑応答の時間とした。

2次元 NMR 測定のための細かい説明から測定方法まで丁寧に教えていただき、大変勉強になった。また測定だけではなく、実際に装置を見ていただいたことで、メンテナンスについてもご指導いただけたのは非常に良い経験となった。



研修時の様子



プローブ清掃時の様子