

大阪大学蛋白質研究所先端核磁気共鳴装置群利用報告書
(トライアルユース)

利用企業名	ブルカー・バイオスピン株式会社	
利用者部署、氏名	アプリケーション部 佐藤 一	
連絡先 住所	〒221-0022 神奈川県横浜市神奈川区守谷町 3-9	
連絡先 電話番号 Fax、E-Mail	Tel. 045-444-1391 Fax 045-453-2458 E-mail hajime.sato@bruker-biospin.jp	
利用課題名	不均一サンプリングを用いた低分子化合物の解析	
概要	<p>蛋白質の解析に用いられる NMR 実験においては、近年不均一サンプリング (NUS) 法が導入されることにより、測定時間の大幅な短縮が達成されてきた。また、NUS によってサンプリングされた不連続なデータを再構築するため、PR、MEM、MDD、shift 法や CS などの手法が応用されてきた。さらに測定装置に NUS や上記のデータを再構築する技術が標準装備され、これらの手法が一般的に利用できるようになってきた。そしてこれらの手法は低分子化合物を用いた比較的高感度な NMR 実験に応用され始めている。</p> <p>低分子化合物の NMR 解析では、シグナルの帰属のあいまいさをなくすために、シグナルの感度が高い、かつ、多次元 NMR 実験の展開方向の分解能が高いスペクトルを得ることが必要である。しかし、低い天然存在比を利用した ^{13}C-^{13}C 相関や ^1H-^{15}N 相関、弱い NOE シグナル、および、3D 実験は低感度であり、また、長い測定時間を要する。</p> <p>低分子化合物を用いたこれら低感度の NMR 実験の結果を示し、また、低分子の構造解析にこの新しい手法が与えるインパクトと適切な利用方法について提案したい。</p>	
利用実施時期及び期間	平成 25 年 9 月 3 日 ~ 平成 25 年 10 月 31 日 総利用日数：17 日 当初計画どおり、当初計画変更 (変更理由)	
利用 NMR 装置	<input checked="" type="checkbox"/> 950 MHz (超低温プローブ、溶液) <input type="checkbox"/> 800 MHz (超低温プローブ、溶液) <input type="checkbox"/> 700 MHz (固体) <input type="checkbox"/> 600 MHz (超高感度固体 DNP) <input checked="" type="checkbox"/> 600 MHz (溶液) <input type="checkbox"/> 500 MHz (固体) <input type="checkbox"/> 500 MHz (溶液) <input type="checkbox"/> 400 MHz (溶液)	
成果の概要	目的	低分子化合物の構造解析に必要な様々な低感度の NMR 実験を、NUS 法によって測定し、CS でデータ処理することにより、本手法の効果的な利用方法について提案する。

	<p>実験内容</p> <p>[^{13}C-^{13}C INADEQUATE 実験] 展開方向のグリッドを128ポイントに設定し、そのうちの32または16ポイントを不均一に取得した。測定時間はそれぞれ16時間23分または8時間13分だった。これを均一に取得した結果（16時間23分）と比較した。</p> <p>[^1H-^{15}N HMBC 実験] 展開方向のグリッドを128ポイントに設定し、そのうちの32、16または8ポイントを不均一に取得した。測定時間はそれぞれ10、5または3分だった。これを均一に取得した結果（38分）と比較した。</p> <p>[^1H-^1H NOESY 実験] 展開方向のグリッドを1,024ポイントに設定し、そのうちの512、256または128ポイントを不均一に取得した。測定時間はそれぞれ9時間8分、4時間32分または2時間16分だった。これを均一に取得した結果（18時間17分）と比較した</p>
	<p>結果及び考察</p> <p>^{13}C-^{13}C INADEQUATE: 不均一に25%（32ポイント）取得したスペクトルでは、同じ測定時間を要した従来のスペクトルと比べて、展開方向において、より高分解能な結果となり、解析が容易となった (Fig. 1)。不均一に12.5%（16ポイント）取得したスペクトルでは、シグナルの数よりもポイント数が少ないために、良好な S/N は得られなかった。</p> <p>^1H-^{15}N HMBC: 不均一に25%（32ポイント）または12.5%（16ポイント）取得したスペクトルでは、均一に取得した従来のスペクトルと比べて、同等の品質であった。測定時間を1/4または1/8に短縮することができた。不均一に6.25%（8ポイント）取得したスペクトルでは、アーティファクトも観測された (Fig. 2)。</p> <p>^1H-^1H NOESY: 不均一に50%（512ポイント）取得したスペクトルでは、従来のスペクトルと比べて同等の品質を得ることができたが、25%（256ポイント）取得したスペクトルでは、小さい NOE シグナルが検出し辛かった。また、不均一に12.5%（128ポイント）取得したスペクトルでは、ほとんど対角ピークのみが検出された。</p> <p>以上の結果より、低感度の NMR 実験において、ピーク強度の差が大きい INADEQUATE や ^1H-^{15}N HMBC では、NUS と CS を用いることにより、測定時間を 1/4 に短縮することができた。しかし、対角ピークと交差ピークの強度差の大きい NOESY では、本手法を用いるには注意が必要であると思われる。</p>
<p>社会・経済への波及効果の見通し</p>	<p>NUS を用いた NMR 実験は低分子に応用されてきている。本トライアルユースの成果から、①超高磁場の装置を用いた長所、②不均一にサンプリングするポイント数の最適化を一般ユーザーへアドバイスできる。本成果は NMR 討論会で発表し、NMR ユーザーに公開している。</p>
<p>成果公開時期の希望</p>	<p><input checked="" type="checkbox"/> 即時公開 <input type="checkbox"/> 論文・特許公開後（最大2年後まで）</p>
<p>利用周辺環境に関する希望</p>	
<p>その他</p>	<p>（上記の項目以外でご意見等お願いします。）</p>

本報告書については、印刷または必要な編集・加工を行った上で公開します。また、別途開催予定の成果報告会・シンポジウムや委託事業報告書作成時において、本報告書の内容についての資料作成または発表をお願いする場合があります。

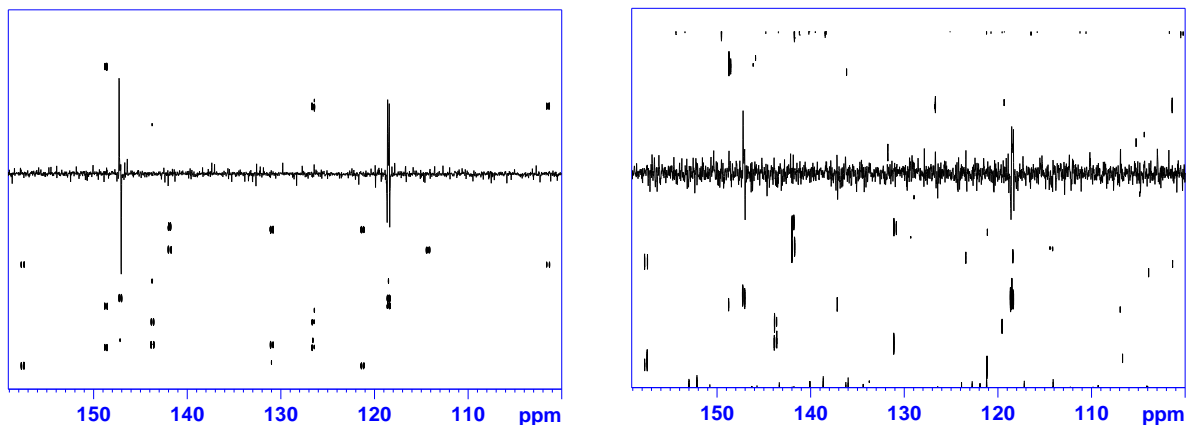
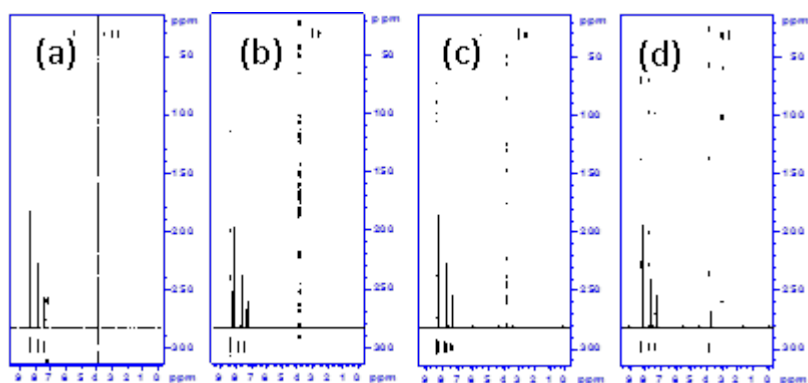


Fig. 1. Comparison of INADEQUATE spectra of quinine from (a) 25% (32 of 128, 16 h 32 min) of the data, and (b) conventional sampling (32 points, 16 h 32 min). A single horizontal cross section through peaks (indicated by arrows) is plotted on each spectrum. SNR of cross section in (a) was much better than that of (b). The same window function was used for both of the spectra. NMR spectra were recorded on a Bruker 950 MHz spectrometer.



1 15

Fig. 2. Comparison of ^1H - ^{13}C HMBC spectra of quinine from (a) conventional sampling (128 points, 38 min), (b) 25% (32 of 128, 10 min), (c) 12.5% (16 of 128, 5 min), and (d) 6.25% (8 of 128, 3 min) of the data, respectively. A single horizontal cross section through peaks (indicated by arrows) is plotted on each spectrum. Artifact peaks (indicated by circles) were observed in (d). NMR spectra were recorded on a Bruker 950 MHz spectrometer.