

**「生体内反応による核スピン量子もつれ生成の検証」**

研究期間：2018年10月～2022年3月

研究者：香川 晃徳

## 1. 研究のねらい

近年、M. Fisherらによって Quantum Dynamical Selection (QDS) と呼ばれる新規な量子生命現象の理論提案がされている。QDS ではピロリン酸のような  $1/2$  核スピンを 2 つ持った小分子を扱う。そのような 2 スピン系の状態は、シングレット状態かトリプレット状態となっている。その小分子が酵素に取り込まれるとパラ水素のように回転の量子自由度が制限され、シングレット状態のみが加水分解されるというのが QDS 現象である。したがって QDS によって生成された分子の核スピンは量子もつれを持つことになる。核スピンは、外部環境との結合が弱いことから、体内という高温でウェットな環境ですら長いコヒーレンスを持つことができる。このような核スピン系で、人工的ではなく生体内での反応で量子もつれが生成されているとすれば、量子もつれが長いタイムスケールの何らかの生命現象にかかわっている可能性が見出せる。これは電子スピンや光子などコヒーレンス時間が短い他の物理系では実現できないことである。

そこで本研究では QDS 現象を実験的に検証することを目的とした。ピロリン酸を対象分子として、分子に含まれる 2 つの  $^{31}\text{P}$  スピンのシングレット状態とトリプレット状態の割合を熱平衡状態から実験的に大きくずらすことにより、酵素反応によって生成されるリン酸の量を変化させることで QDS の検証を目指した。核磁気共鳴 (NMR) 分野で近年注目されている、核スピンの向きを揃えて飛躍的に感度向上を実現する動的核偏極 (DNP) と核スピンのコヒーレンス時間が長くなるラジオ波パルスによるシングレット状態生成の 2 つの量子技術を用いて検証を行う。

## 2. 研究成果

## (1) 概要

QDS の実験的な検証を行うには、ピロリン酸のシングレット状態とトリプレット状態の割合を熱平衡状態から大きく変化させる必要がある。極低温、高磁場下で DNP を行うことで核スピンの向きを揃えた高偏極状態を生成することで、シングレット状態の量を減少させることができる。またその状態にラジオ波を照射し、核スピンの向きを制御することによってシングレット状態の量を増加させることが可能である。酵素反応を測定するには、DNP 実験を行った固体状態のサンプルを溶解し、酵素反応によって生成されるリン酸の量を測定する必要がある。本研究では、そのような実験が行える溶解 DNP 装置の開発を行った。溶解 DNP 装置では、(1)極低温 DNP プローブ、(2)サンプル転送装置、(3)サンプル溶解装置、(4)高分解能 NMR 用プローブの開発を行い、高偏極化したピロリン酸のリアルタイム液体 NMR 測定に成功した。極低温下での DNP において、実験条件を最適化することによって、50%の  $^{31}\text{P}$  スピン偏極を実現し、そのサンプルを溶解した液体状態で、9.4 テスラ下の熱平衡状態と比較して、4500 倍の約 6%の  $^{31}\text{P}$  スピン偏極を得た。

また高偏極化した核スピんにラジオ波を照射することで、シングレット状態生成のデモンストレーションを行った。通常のスピン格子緩和時間と比較して、2 倍以上に緩和時間を長くすることに成功した。量子化学計算と分子動力学を用いて理論的に緩和時間の計算を行うプロトコルの開発を行った。これらの装置開発、実験手法開発、理論研究によって QDS 現象の検証へ向けた技術基盤を確立した。

## (2) 詳細

### 研究テーマ A 「溶解 DNP 装置の開発」

本研究を実現するために DNP によって核スピン偏極を熱平衡状態より大きく変化させる必要がある。リアルタイムな酵素反応を NMR で測定するために、図 1 に示した溶解 DNP 装置を構築した。DNP では電子スピン偏極をマイクロ波照射によって核スピんに移すことによって高い核スピン偏極を得ることができる。ほぼ 100% の電子スピン偏極を得るために極低温、高磁場下で DNP 実験を行える系を構築した。その後、サンプルを転送、溶解し液体 NMR によって酵素反応を測定する。溶解時のサンプル希釈が少なく、高価なサンプルの量を低減できる固体サンプルを転送するバレット DNP 法を採用し、室温下で溶解を行う系を構築した。極低温での実験のために、熱流入を考慮した DNP プローブを開発した。電磁界シミュレータによってマイクロ波伝送のための導波管を設計し、DNP プローブに導入した。またマイクロ波を掃引できる系を構築し、DNP による電子スピンからの核スピンへの偏極移動の効率化を図った。サンプル作製の最適化を行った結果、スルホラン/DMSO のガラス化溶媒にピロリン酸(1.5M)と BDPA(40mM)を溶解させたサンプルで、最も高い  $^{31}\text{P}$  スピン偏極が得られることが分かった。その結果、4.8 テスラ、1.4K の実験環境において、ピロリン酸の  $^{31}\text{P}$  スピン偏極を 50% まで高めることに成功した。そのサンプルを圧縮ヘリウムガスで、高分解能液体 NMR 測定が行える 9.4 テスラの超伝導磁石まで転送する系を構築し、超伝導磁石間 7m を 300ms でのサンプル転送に成功した。転送中の高偏極状態の緩和を防ぐために、電磁界シミュレータで設計・開発した磁場トンネルを導入した。高速なサンプル転送による磁

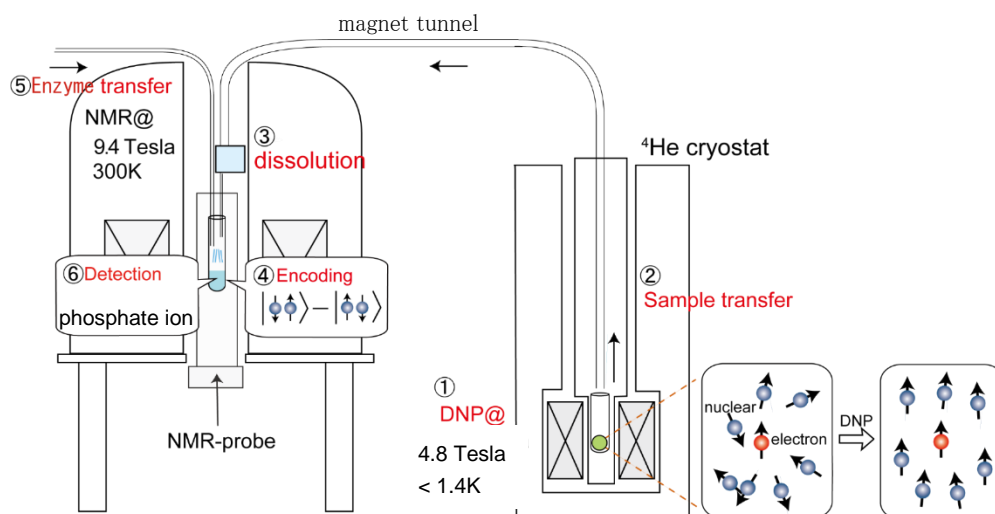


図 1. 開発した溶解 DNP 装置

化の回転が起こらないように磁場トンネルの磁場強度を断熱的に変化するように設計している。また転送された固体サンプルを溶解し、NMR 管へと溶液を転送する溶解装置の開発を行った。溶媒温度、転送チューブ径、転送圧力などを最適化することによって 1 秒程度での溶液転送が可能となった。

さらにその溶解装置と組み合わせることができる液体 NMR プローブを開発した。線幅 20Hz 程度の液体 NMR 測定が可能である。それらの開発した系を組み合わせることによって、リアルタイムな液体 NMR 測定を実現した(図 2)。<sup>31</sup>P スピン偏極を 9.4 テスラ、300 K の熱平衡状態と比較して約 4500 倍の 6%に向上させることに成功した。この結果から、QDS の実験的な実証へ向けた技術基盤を得たといえる。また国内においては、このような溶解 DNP 装置開発は初である。今後は、極低温下で得た <sup>31</sup>P スピン偏極の減衰を抑えた実験系に改善し、酵素反応のリアルタイムな NMR 測定を行い、QDS の実験的な検証を目指す。

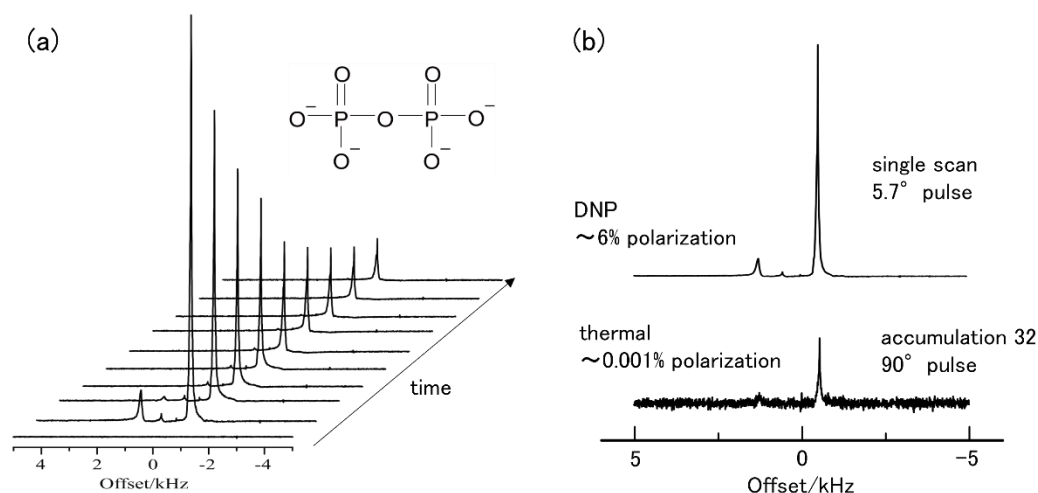


図 2. 高偏極化した <sup>31</sup>P スピンの NMR スペクトル、(a) 4 秒毎のリアルタイム測定、(b) 32 回積算した熱平衡状態と DNP によって高偏極化された NMR 信号の比較

### 研究テーマ B 「シングレット生成の基盤技術の確立」

高偏極化した状態にラジオ波パルス照射して、シングレット状態を生成するデモンストレーション実験を行った。本実験ではパラクロロ安息香酸の 2 つの <sup>1</sup>H スピンペアをシングレット状態にエンコードした。図 3 に示したラジオ波パルスシーケンスによってシングレット状態の生成、維持、観測を行った。まずデモンストレーションを行うための NMR プローブを開発した。分子の J 結合、化学シフト差からラジオ波の照射タイミングや強度を決定し、シングレット状態を生成した。その結果、通常の Z 方向のスピングリッド緩和時間と比較して 2 倍以上となる 18 秒の緩和時間が得られた。シングレット状態はトリプレット状態と隔離されているため、緩和時間が長くなることが知られている。この結果から、高偏極状態をシングレット状態に変化させるデモンストレーションに成

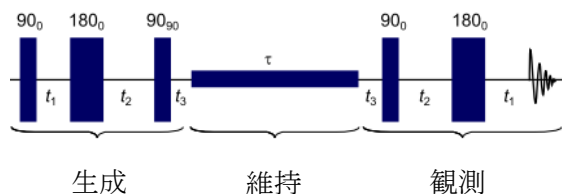


図 3 シングレット状態生成のラジオ波パルスシーケンス

功したといえる。

またシングレット状態の緩和時間を理論的に計算するプロトコルの構築を行った。これまで剛体球モデルで計算していたものをより高精度で計算するために分子動力学と量子化学計算を組み合わせたプロトコルを開発した。<sup>1</sup>H スピンや <sup>13</sup>C スピンのシングレット状態の計算は実験値に対してよい精度で一致した値が得られた。しかし本研究で対象とした <sup>31</sup>P スピンでは化学シフトテンソルが大きいいためスピンの緩和時間が実験値と大きく異なっていた。今後はより精度が良い汎関数の探索や QM/MM などを用いてより溶媒の効果を取り入れることで精度の改善を見込んでいる。

### 3. 今後の展開

本研究で開発した溶解 DNP 装置を用いて、液体中でのピロリン酸の <sup>31</sup>P スピン偏極を 6% 程度まで向上させている。また広く応用が知られているピルビン酸の <sup>13</sup>C スピンにおいては、本装置を用いて偏極率 7.5% の 1 万倍近い高感度化を実現している。DNP による NMR/MRI の高感度化の研究では Q-leap プロジェクトに研究分担者と参画しており、生命科学の研究者と酵素反応について検討している。そこから得た知見と本研究で形成した技術基盤を組み合わせることで速やかに、ピロリン酸の酵素反応実験を行い、実験的な QDS の検証を目指す。また市販装置では困難な多段階の酵素反応などを、装置の改良によって実現できるため、さらなる生命現象への応用が期待できる。

### 4. 自己評価

本研究では QDS の実験的な検証を目指して、溶解 DNP 装置の開発をゼロから行った。研究費は、主に 4He 冷凍機、マイクロ波発振器、ポンプ、等の物品購入として執行した。大学院生 1 名と共に装置開発を行ったが、機器の故障や技術的に解決しなければならない課題が多く当初の計画より時間がかかったことで QDS の実験的な検証までには至らなかった。近年、溶解 DNP 装置を用いたリアルタイムな酵素反応測定は非常に注目されており、本研究ではそれらの研究にも応用可能な技術基盤を形成できた。本さがけ領域内の研究者とも DNP の共同研究や予算申請を行い、新たな研究ネットワークを構築した。

### 5. 主な研究成果リスト

#### (1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 4件

1. A. Kagawa, K. Miyanishi, N. Ichijo, M. Neogor, Y. Nakamura, H. Enozawa, T. Murata, Y. Morita, M. Kitagawa, "High-field NMR with dissolution triplet-DNP", J. Magn. Reson., 2019, 309, 106623-1-5.

DNP における偏極移動のプロセスでは一般的に核スピン間の双極子結合を用いるため、高偏極化は固体状態で行われる。高偏極化したターゲット分子を液体 NMR や MRI 実験に応用するには、そのサンプルを溶解する必要がある。本研究では DNP によって高偏極化したサンプルを溶解し、高分解能な溶液 NMR が測定できる実験系を開発した。また、その実験によ

て固体状態から液体状態への溶解プロセスにおいては偏極率が保持されることがわかった。

2. K. Miyanishi, N. Ichijo, M. Motoyama, A. Kagawa, M. Negoro, M. Kitagawa, “Long-lived state in a four-spin system hyperpolarized at room temperature”, Quantum Sci. Tech., 2020, 5, 025004-1-7.

DNPによって高偏極化したパラクロロ安息香酸の<sup>1</sup>Hスピんにラジオ波を照射し、シングレット状態ペアを生成した。通常のスピン格子緩和時間と比較して、緩和時間を2倍以上の18秒へ長くすることができた。それによって高感度な高偏極状態を長く維持できることを示した。またパラクロロ安息香酸を内包することができる分子との分子間相互作用を緩和時間の変化から読み取る手法を提案し、実験的に示した。

(2) 特許出願:0件(特許公開前のものも含む)

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

[招待講演]

1. Akinori Kagawa, “Highly polarized nuclear spins for biological applications”, IEEE Nuclear Science Symposium And Medical Imaging, 2021/10/17, online (国際)
2. 香川晃徳, “生体内における核スピン選択化学反応の実証を目指して”, 量子生命科学会第2回大会, 2020/12/24, online (国内)
3. 香川晃徳, “核スピンの高偏極化とその応用”, 186委員会第35回研究会, 2020/10/07, online (国内)

[受賞]

1. 土井徹(研究指導学生)、量子生命科学会第1回大会ポスター発表優秀賞、2019/05/22
2. 宮西孝一郎(研究指導学生)、量子生命科学会第1回大会ポスター発表優秀賞、2019/05/22