

ERC-projekti ultranopeiden NMR- menetelmien kehittämiseen

Euroopan tutkimusneuvosto (ERC) myönsi minulle 2.6 miljoonan euron consolidator grant (CoG) -rahoituksen ultranopeiden NMR-menetelmien kehittämiseen. Projektin nimi on Ultrafast Laplace NMR, ja sen kesto on 5 vuotta. Projekti alkoi huhtikuussa 2018. Tässä artikkelissa esittelen, mistä projektissa on kysymys.

NMR-spektroskopia

Spektroskopiolla tutkitaan aineen ja sähkömagneettisen säteilyn välistä vuorovaikutusta. Joissakin spektroskopioiden keskitytään atomien ympärillä olevien elektronien siirtämiseen tilalta toiselle tai molekyylin pyörimis- ja värähtelytilojen muutoksiin. Ydinmagneettisessa resonanssispektroskopiassa eli NMR-spektroskopiassa keskitytään atomien ytimiin.

Monilla ytimillä on spiniksi kutsuttu ominaisuus, jonka vuoksi ne ovat ikään kuin hyrriä. Jos ytimellä on spin, niin sillä on myös magneettinen momentti. Kun tällaiset magneettiset hyrrät laitetaan magneettikenttään, ne alkavat prekessoida kentän suunnan ympäri samalla tavalla, kuin tavallinen hyrrä prekessoi maan gravitaatiokentässä. Prekessiotaajuutta kutsutaan ytimen Larmor-taajuudeksi, ja se on suoraan verrannollinen ulkoisen magneettikentän voimakkuuteen.

Kun suuri määrä ytimiä on riittävän kauan voimakkaassa magneettikentässä, ne pyrkivät orientoitumaan magneettikentän suuntaisesti. Tällöin ydinten magneettisten momenttien summana näytteeseen muodostuu makroskooppinen ydinmagnetoituma. NMR-kokeen alussa magnetoituma poikkeutetaan poikittaiselle tasolle radiotaajuudella sähkömagneettisen säteilyn pulssilla. Tämän jälkeen magnetoituma alkaa prekessoida, koska kaikki yksittäiset ytimetkin prekessoivat. Prekessoiva magnetisaatio indusoi ympärillä olevaan kelaan vaihtovirran samalla tavalla kuin polkupyörän dynamon pyörivä magneetti. Indusoitunut signaali muunnetaan spektriin Fourier-muunnoksella. Spektriin taajuus paljastaa ytimen prekessiotaajuuden.

Ytimen ympärillä olevat elektronit sekä toiset ytimet muuttavat hieman ytimen kohdalla olevan magneettikentän voimakkuutta, muuttaen spektriviivojen taajuuksia sekä silpoen niitä. Tämän vuoksi eri molekyylien spektreistä tulee uniikkeja molekyylien sormenjälkiä, joita voidaan käyttää esimerkiksi kemiallisen synteessin tuotteiden tunnistamiseen ja rakenteen määrittämiseen. Ilmiö tekee NMR-spektroskopiasta erään tärkeimmistä menetelmistä kemiallisessa analyysissä.

Moniulotteinen NMR-spektroskopia

NMR-spektroskopian resoluutiota ja informaation sisältöä voidaan kasvattaa huomattavasti moniulotteisilla kokeilla. Niillä voidaan esimerkiksi määrittää, mitkä atomit ovat kytkeytyneet toisiinsa kemiallisin sidoksien ja mitkä ovat avaruudellisesti toistensa lähellä ilman kemiallista sidosta. Moniulotteiset tekniikat helpottavat merkittävästi suurten molekyylien kolmiulotteisen rakenteen määrittämistä.

Moniulotteisten kokeiden merkitystä kuvaa se, että ne liittyvät olennaisesti kahteen eri kemian Nobelpalkintoon. Sveitsiläiset Richard Ernst ja Kurt Wüthrich saivat palkinnon vuosina 1991 ja 2002, edellinen menetelmien kehittämisestä ja jälkimmäinen niiden soveltamisesta suurten molekyylien kolmiulotteisen rakenteen tutkimisessa. NMR:n avulla proteiinien rakennetta pystytään tutkimaan niiden luontaisessa liuostilassa.

Magneettikuvaus

NMR-spektroskopian tunnetuin sovellus on sairaaloissa käytettävä magneettikuvausmenetelmä. Magneettikuvauksen perusperiaate on hyvin yksinkertainen. Ulkoinen magneettikenttä tehdään lineaarisesti paikasta riippuvaksi siten, että se esimerkiksi kasvaa tasaisesti potilaan päästä jalkoihin. Tällöin vesimolekyylien vetyatomien prekessiotaaajuus on suurempi jaloissa kuin päässä, ja havaittava spektri on potilaan yksiulotteinen kuva.

Moniulotteisen NMR-spektroskopian periaatteita soveltaen potilaasta voidaan mitata kaksiulotteisia viipalekuvia, ja viipaleiden paikkaa ja orientaatiota voidaan elektronisesti muuttaa. Menetelmässä käytettävä radiotaajuinen säteily ei vahingoita potilasta, ja se pystyy tunkeutumaan optisesti läpinäkymättömien materiaalien sisälle. Tämän vuoksi magneettikuvaus on turvallinen ja tarkka menetelmä esimerkiksi aivojen kuvantamisessa.

Laplace NMR

NMR-spektroskopia tarjoaa myös monipuolista tietoa molekyylin liikkeestä. Relaksaatioajat kuvaavat sitä, kuinka nopeasti ydinmagnetisaatio palaa tasapainotilaansa poikkeuttamisen jälkeen. Relaksaatioaikoja voidaan mitata erilaisilla NMR-kokeilla, ja ne tarjoavat yksityiskohtaista tietoa molekyylin pyörimisliikkeestä.

NMR on myös eräs harvoista menetelmistä molekyylin diffuusion tutkimiseen ilman merkkiaineita. Diffuusiomittauksissa verrataan molekyylin paikkaa kokeen alussa ja kokeen lopussa soveltaen magneettikuvauksen periaatteita.

Sekä relaksaatio- että diffuusiokokeet tuottavat eksponentiaalisesti vaimenevan signaalin. Relaksaatioaika- ja diffuusiiovakiojakaumat saadaan ratkaistua käänteisellä Laplace-muunnoksella. Tämän vuoksi kokeita voidaan kutsua yhteisellä nimellä Laplace NMR.

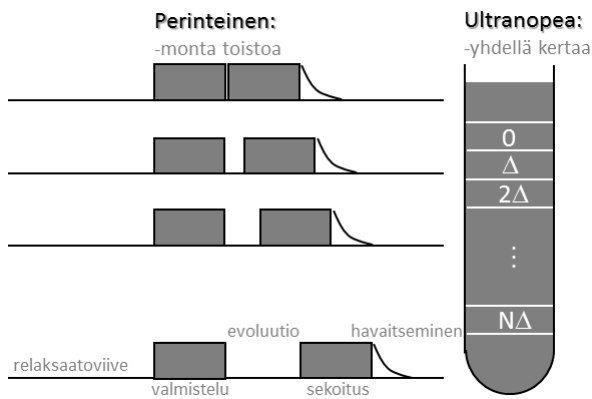
Moniulotteinen Laplace NMR

Moniulotteiset Laplace NMR –kokeet tekevät mahdolliseksi eri relaksaatio- ja diffuusioparametrien välisen korrelaation määrittämisen. Korrelaatioiden avulla saadaan esimerkiksi yksityiskohtaista tietoa huokosissa olevien nesteiden molekyylin vuorovaikutuksesta huokosseinämän kanssa. Relaksaatio- ja diffuusiokonstrastia voidaan myös hyödyntää diffuusiosta johtuvien vaihtoilmöiden tutkimiseen huokosten välillä, mikä voi auttaa vaikka parempien heterogeenisten katalyyttien kehittämisessä.

Ultranopea NMR-spektroskopia

Moniulotteisten NMR-kokeiden heikkous on se, että ne kestävät hyvin kauan. Koe pitää toistaa kymmeniä tai satoja kertoja erimittaisilla evoluutioajoilla epäsuoran ulottuvuuden informaation keräämiseksi. Kokonaisuudessaan koe kestää minutteja tai jopa tunteja. Kokeen pitkä kesto laskee NMR-spektrometrien käytön tehokkuutta. Se tekee myös mahdottomaksi nopeiden prosessien reaaliaikaisen seurannan.

Vuonna 2002 israelilainen professori Lucio Frydman loi käsitteen ultranopea NMR-spektroskopia. Menetelmässä yhdistetään NMR-spektroskopian ja magneettikuvauksen periaatteita moniulotteisen NMR-kokeen nopeuttamiseksi. Moniulotteisen kokeet eri evoluutioajat koodataan näytteen kerroksiin, ja tällä tavoin koko moniulotteinen data voidaan mitata yhdellä kertaa. Haittapuolena on kokeen herkkyden laskeminen näytteen ”pilkkomisen” vuoksi.



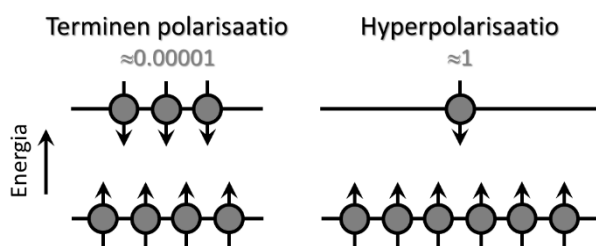
Perinteinen moniulotteinen NMR-koee pitää toistaa monta kertaa eri evoluutioajoilla. Ultra nopeassa kokeessa eri evoluutioajat koodataan näytteen kerroksiin. Näin moniulotteinen data voidaan mitata hyvin tehokkaasti yhdellä kertaa.

Ultra nopea Laplace NMR

ERC-projektissani sovellamme avaruudellisen koodauksen periaatetta ensimmäistä kertaa moniulotteisiin Laplace NMR –kokeisiin. Menetelmä lyhentää moniulotteisen relaksaatio- ja diffuusiokokeen kestoja yhdestä kolmeen kerralukua, mahdollistaen nopeiden molekulaaristen prosessien reaaliaikaisen tutkimisen. Projektin tavoitteena on kehittää suuri joukko ultra nopeita relaksaatio- ja diffuusiokokeita. Ne muodostavat uuden NMR-menetelmien luokan, jota kutsutaan ultra nopeaksi Laplace NMR:ksi.

Hyperpolaroitu ultra nopea Laplace NMR

Pienistä magneettisista momenteista johtuen ydinspinien terminen polarisaatio on hyvin pieni. NMR-signaalin voimakkuus on verrannollinen polarisaation suuruuteen. Tämän vuoksi NMR on hyvin epäherkkä menetelmä. Polarisaatiota voidaan kuitenkin kasvattaa jopa viidellä kerraluvulla moderneilla hyperpolarointimenetelmillä. Yleensä menetelmät perustuvat parittomien elektronien suuren polarisaation siirtämiseen ytimille.



Moderneilla hyperpolarointimenetelmillä ydinspinien polarisaatiota ja NMR-kokeen herkkyyttä voidaan kasvattaa jopa viidellä kerraluvulla.

Hyperpolarisaation tuottaminen on kuitenkin useimmiten hyvin aikaa vievä prosessi. Esimerkiksi dynaamisessa ydinten polarointi (DNP) –menetelmässä prosessi voi kestää jopa tunteja. Perinteisissä moniulotteisissa NMR-kokeissa hyperpolarointi pitäisi toistaa kymmeniä tai satoja kertoja, mikä on käytännössä mahdotonta.

Koska ultra nopealla NMR-menetelmällä moniulotteinen data voidaan mitata yhdellä kertaa, se tekee myös mahdolliseksi hyperpolaroinnin hyödyntämisen moniulotteisissa kokeissa. Vaikka avaruudellinen koodaus heikentääkin hieman NMR-kokeen herkkyyttä, hyperpolaroinnin tarjoama herkkyyden kasvu on

moninkertainen, ja kokonaisuudessaan kokeen herkkyys kasvaa monella kertaluvulla. Näin näytteestä voidaan havaita molekyylejä, joiden konsentraatio on hyvin alhainen.

Syöpäsolujen tutkiminen

ERC-projektissani hyödynnämme kehittämiämme ultranopeita Laplace NMR –menetelmiä muun muassa syöpäsolujen aineenvaihdunnan tutkimisessa. Hyperpolarisaation avulla saamme kasvatettua kokeen herkkyyttä riittäväksi aineenvaihduntatuotteiden havaitsemiseksi. Relaksaatio- ja diffuusiokontrastin avulla pystymme selvittämään, ovatko aineenvaihduntatuotteet solun sisällä vai ulkopuolella, sekä millä nopeudella ne liikkuvat näiden paikkojen välillä soluseinämien läpi. Näiden tietojen avulla aineenvaihduntaprosesseja kuvaavia malleja voidaan tarkentaa.

Mobiili ultranopea Laplace NMR

Matalan magneettikentän NMR-laitteet ovat paljon halvempia kuin korkean kentän NMR-spektrometrit. Pienen kokonsa vuoksi ne mahdollistavat mobiiliin NMR:n. Yksipuolisilla magneeteilla voidaan tutkia materiaalien pintoja ilman koko- tai geometriarajoituksia. Niiden magneettikenttä on kuitenkin hyvin epähomogeeninen, eikä niillä voida sen vuoksi mitata korkean resoluution NMR-spektrejä. Ne soveltuvat kuitenkin spinkaikuihin perustuviin Laplace NMR –mittauksiin. Yksipuolisia NMR-spektrometreja käytetään esimerkiksi arvokkaiden maalauksien tutkimisessa sekä öljyn etsinnässä porausrei'issä.

ERC-projektissani hyödynnämme yksipuolisten magneettien magneettikentän epähomogeenisuutta moniulotteisen Laplace NMR –datan avaruudellisessa koodauksessa. Olemme osoittaneet, että ultranopeat Laplace NMR –menetelmät soveltuvat myös näille laitteille.

Matalan kentän laitteet ovat erityisen epäherkkiä hyvin alhaisen termisen ydinspinpolarisaation vuoksi, ja koe pitää toistaa satoja tai tuhansia kertoja riittävän signaali-kohina-suhteen aikaansaamiseksi. Hyperpolarisaation avulla olemme onnistuneet kasvattamaan herkkyyttä niin paljon, että pystyimme mittaamaan kaksiulotteisen ultranopean Laplace NMR datan yhdellä kertaa muutamassa kymmenessä millisekunnissa. Tämä avaa erittäin kiinnostavia näköaloja kehittyneeseen, halpaan ja mobiiliin NMR-analyysiin.

Yhteenveto projektista

ERC-projektissa ”Ultrafast Laplace NMR” pyrimme siis tekemään seuraavan laisen kolmiloikan:

1. Avaruudellisen koodauksen avulla kasvatamme moniulotteisten Laplace NMR –kokeiden tehokkuutta yhdestä kolmeen kertalukua, sekä kehitämme uuden NMR-menetelmien luokan, jota kutsutaan ultranopeaksi Laplace NMR:ksi.
2. Nämä yhden mittauksen menetelmät tekevät mahdolliseksi modernien hyperpolarointimenetelmien hyödyntämisen moniulotteisissa Laplace NMR –kokeissa, minkä vuoksi kokeiden herkkyyttä saadaan kasvatettua monella kertaluvulla.
3. Koska menetelmät soveltuvat myös matalan kentän NMR-laitteille, kehittyneistä NMR-menetelmistä saadaan entistä mobiilimpia ja kustannustehokkaampia.

Menetelmillä on monia hyvin mielenkiintoisia potentiaalisia sovelluksia eri tieteenaloilla esimerkiksi kemiassa, biokemiassa, geologiassa, arkeologiassa ja lääketieteessä.