

Entwicklung von NMR-Spektrometern – eine Technologietransfer-Erfolgsstory

M. Kläser, Th. Schneider, ITP

Einleitung

Die NMR-Spektroskopie (NMR – nuclear magnetic resonance) und ihre Anwendung bei biochemischen Fragestellungen haben sich zu einer Schlüsseltechnologie in der Biotechnologie entwickelt. Die Höchstfeld-NMR-Spektrometer mit Protonen-Resonanzfrequenzen ≥ 750 MHz stellen dabei ein unverzichtbares und sehr kraftvolles Werkzeug für die Strukturaufklärung und Dynamik von Biomolekülen dar, wie sie z. B. in der Aids-, SARS-, Rinderwahn- oder Alzheimer-Forschung benötigt werden.

Die wissenschaftliche Akzeptanz der NMR (z. B. Nobelpreis 1991 Prof. Dr. R. Ernst bzw. 2002 Prof. K. Wüthrich) und die Ausweitung auf weitere Forschungsgebiete – z. B. in Chemie und den Materialwissenschaften –, der damit verbundene technologische Nutzen und die enorme Nachfrage nach solchen hochauflösenden NMR-Spektrometern führten in den letzten Jahren deutschlandweit zur Gründung von NMR-Kompetenz-Zentren und Universitätsinstituten mit dem Schwerpunkt NMR-Forschung (Tab. 1).

Ausgerüstet sind diese Institutionen mit den NMR-Spektrometern (750 MHz, 800 MHz und 900 MHz),

die im Forschungszentrum Karlsruhe in Zusammenarbeit mit dem Industriepartner Bruker BioSpin GmbH (früher Bruker AG) in gemeinsam durchgeführten Technologietransfer-Projekten entwickelt, gebaut und getestet wurden.

Die NMR-Spektroskopie ist die einzige Methode zur Bestimmung der dreidimensionalen Struktur mit atomarer Auflösung und der Dynamik von biologischen Makromolekülen im Zeitfenster von Nanosekunden unter annähernd physiologischen Bedingungen. Die Resonanzsignale der Protonen in den Molekülen sind das Ziel der Untersuchungen. Im Magnetfeld nehmen die Protonen auf Grund ihres

NMR-Zentrum	Einweihung	Leitung
Europäisches NMR-Zentrum www.bmrz.uni-frankfurt.de	09.04.2006	Prof. Dr. Schwalbe Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie Universität Frankfurt
Biomolekulares NMR-Zentrum Forschungszentrum Jülich www.fz-juelich.de	17.05.2005	Prof. Willbold Leiter der NMR-Abteilung Institut für Physikalische Biologie Universität Düsseldorf
Zentrum für Magnetische Resonanz der Universität Leipzig (MRZ) mrz.uni-leipzig.de	30.03.2004	Prof. Dr. Jürgen Haase Universität Leipzig
Bayrisches NMR-Zentrum www.org.chemie.tu-muenchen.de	18.11.2002	Prof. Dr. H. Kessler Ordinarius für Organische Chemie TU München
NMR Zentrum zur Strukturaufklärung von Biomolekülen Göttingen www.mpibpc.gwdg.de	04.11.2002	Prof. Dr. Ch. Griesinger MPI Göttingen Abteilung: NMR-basierte Strukturbioogie
Zentrum für Biomolekulare Magnetische Resonanz (BMRZ) Frankfurt www.bmrz.uni-frankfurt.de	04.09.2002	Prof. Dr. C. Glaubitz Institut für Biophysikalische Chemie Universität Frankfurt

Tab.1: Liste der deutschlandweit gegründeten NMR-Zentren.

Spins und dem damit gekoppelten magnetischen Moment zwei Energieniveaus mit unterschiedlichen Besetzungszahlen ein (siehe Abb. 1). Durch Einstrahlen einer elektromagnetischen Welle mit der Resonanzfrequenz lassen sich die Kernspins anregen, von einem Energiezustand in den anderen überzugehen. Die dabei auftretende Energiedissipation kann mit elektronischen Mitteln als Resonanzlinie aufgezeichnet werden. Bei Untersuchungen an Molekülen werden Linienaufspaltungen beobachtet, die durch Wechselwirkung des Kernspins mit der Elektronenhülle des Moleküls zustande kommen. Daraus lassen sich Aussagen über die Molekülstruktur machen. Diese so genannte „chemical shift“ ist proportional

zum Magnetfeld, die Separation der Linien umso größer, je größer das angelegte Magnetfeld. Die Breite der Resonanzlinien ist von der absoluten Homogenität des Magnetfeldes abhängig, das heißt, bei größerer Magnetfeldstärke ist die geforderte Auflösung der Resonanzlinien von 0,2 Hz nur dann zu erreichen, wenn gleichzeitig die relative Homogenität $\delta B/B_0$ verbessert wird.

Der Wunsch der Anwender nach immer höheren Protonen-Resonanzfrequenzen und die damit verbundene Steigerung der Dispersion der Resonanzlinien und der Signalintensität waren und sind Triebfedern für die Zusammenarbeit zwischen Bruker BioSpin und dem Forschungszentrum bei der

gemeinsamen Entwicklung von hochauflösenden NMR-Spektrometern mit Frequenzen ≥ 750 MHz, d. h. Zentralfeldstärken $\geq 17,6$ Tesla (T).

Der Synergie-Effekt als Keim der Technologietransfer-Projekte

„Was wir alleine nicht schaffen, das schaffen wir dann zusammen“, diese von Xavier Naidoo besungene Melodie hätte auch das Motto für die Gründer des ersten Technologietransfer-Projektes 1985 sein können. Ziel war es, ein hochauflösendes NMR-Spektrometer mit einer Zentralfeldstärke von mindestens 17,6 T zu entwickeln, was im Vergleich zu den damaligen kommerziellen Systemen mit einer

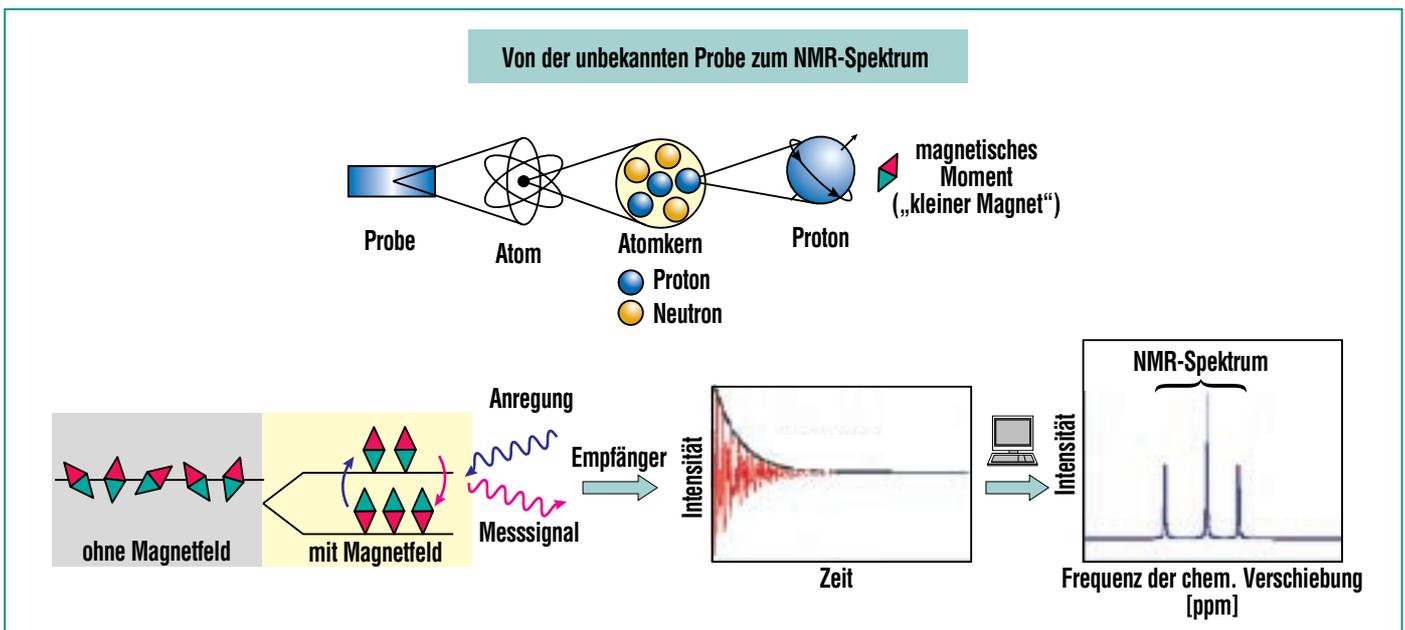


Abb. 1: Stark vereinfachte Darstellung der NMR-Spektroskopie: Die magnetischen Kernspins eines Atomkerns richten sich in einem äußeren Magnetfeld parallel oder antiparallel aus. Beide Zustände unterscheiden sich in ihrer Energie und man kann durch Einstrahlen der genauen Energiedifferenz (Radiofrequenzpuls) erreichen, dass einige Kerne ihren Spin umkehren und somit vom Grund- in den angeregten Zustand übergehen. Im Anschluss an die Anregung ist das System bestrebt, wieder in den Gleichgewichtszustand zurückzugelangen. Mit Hilfe eines entsprechenden experimentellen Aufbaus kann man dann die „Antwort“ der Probe aufzeichnen und durch Fouriertransformation in ein NMR-Spektrum umwandeln.

Feldstärke von 11,7 T (500 MHz) eine Feldsteigerung von 50 % und mindestens eine Verdopplung der gespeicherten elektrischen Energie und Lorentzkräfte bedeutete.

Dieses ehrgeizige Projekt konnte nur gelingen, wenn alle Erfahrungen seitens Bruker BioSpin und dem Forschungszentrum (Institut für Technische Physik – ITP) konstruktiv interferierten. Bruker BioSpin blickte dabei auf sein langjähriges Wissen über verlustarme Kryostate, Design von NMR-Probenköpfen und Hochfrequenzeinheiten, der Korrekturspulen (technisch: Shimspulen), sowie Erfassung und Aufbereitung der NMR-Daten zurück. Das Institut für Technische Physik hatte mit den Hoch-

feldexperimentieranlagen JUMBO und HOMER I [1] ein tiefgehendes Wissen über Konzeption, Bau, Test und Betrieb rein supraleitender Höchstfeldsolenoidmagnete, sowie über den Bau und Betrieb von komplexen Kryostaten mit einer Badtemperatur kleiner 4,2 K (Temperatur von flüssigem Helium).

Die Synergie beider Partner führte 1991 zur Markteinführung des weltweit ersten 750-MHz-NMR-Spektrometers und war das Fundament für die erfolgreiche Entwicklung aller nachfolgenden Generationen (Abb. 2).

Das Forschungszentrum kann inzwischen auf eine kontinuierliche 22-jährige Zusammenarbeit mit

Bruker BioSpin mit zahlreichen Kooperations- und Lizenzverträgen zurückblicken. Die NMR-Spektrometer mit Protonenresonanzfrequenzen von 750 MHz, 800 MHz und 900 MHz sind erfolgreich kommerzialisiert worden, die Arbeiten zum ersten 1000-MHz-NMR-Spektrometer sehr weit fortgeschritten. Bruker BioSpin konnte sich mit einem Marktanteil von weit mehr als 50 % am Weltmarkt etablieren. Dieser Erfolg spiegelt sich in über 100 verkauften NMR-Systemen und in Lizenzzahlung an das Forschungszentrum in Millionenhöhe wider.

Das Produkt „Hochauflösendes NMR-Spektrometer“

Die Ansprüche, die an hochauflösende NMR-Spektrometer als ein erfolgreiches kommerzielles Produkt gestellt werden, erscheinen simpel. Das Spektrometer muss in erster Linie die technischen Spezifikationen nach höchsten Feldstärken bzw. Protonenresonanzfrequenzen (zwischen 17,6 T bzw. 750 MHz und derzeit > 22,3 T bzw. 950 MHz) mit den hohen räumlichen und zeitlichen Stabilitätskriterien erfüllen (Tab. 2). Zusätzlich muss sich aber ein solches Spek-

Anforderungen an das supraleitende Hauptspulensystem (ohne Korrekturspulen)

Zentralfeld	17,6 T / 750 MHz
Räumliche Homogenität	$\delta B/B_0 < 1$ ppm
Zeitliche Stabilität	1 Hz/h

Tab. 2: Anforderungen an das supraleitende Hauptspulensystem, die bei Realisierung des weltweit ersten hochauflösenden 750-MHz-NMR-Spektrometers eingehalten wurden.

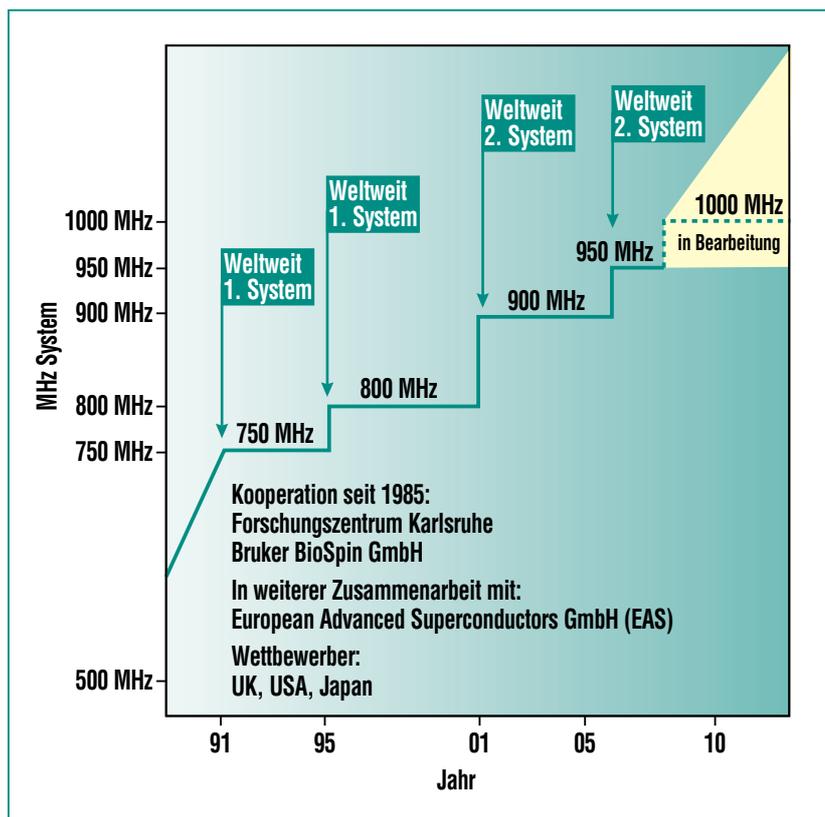


Abb. 2: Erfolgreiche Entwicklung von hochauflösenden NMR-Spektrometern im Rahmen der Technologietransfer-Projekte zwischen dem weltweit ersten hochauflösenden 750-MHz-NMR-Spektrometer im Forschungszentrum Karlsruhe und Bruker BioSpin GmbH.

trometer auch für den eigentlichen wissenschaftlichen Nutzer als ein nahezu wartungsfreies, sicheres, für spezielle Anwendungen praktisch einsetzbares, bedienerfreundliches und vor allem kompaktes Gerät präsentieren. Alle Aspekte sind Voraussetzungen, um zu einer Akzeptanz bei den Käufern zu führen, was sich dann in den Verkaufszahlen widerspiegelt.

Für die NMR-Spektrometer heißt das im einzelnen: Das Herzstück, das supraleitende Magnetsystem, muss die geforderte Zentralfeldstärke mit einer extrem hohen Auflösung von 0,2 Hz in einem Probendurchmesser von 5 mm und einer axialen Länge von 30 mm haben, das heißt z. B. bei einer Resonanzfrequenz von 1000 MHz besser als $2,0 \times 10^{-10}$. Um diese Auflösung realisieren zu können, ist neben einer sehr guten Basis-homogenität des supraleitenden Hauptspulen $\delta B/B_0 \leq 10^{-6}$ auch eine sehr gute zeitliche Stabilität des Feldes kleiner 1 Hz/h notwendig. Das komplette Magnetsystem mit allen Komponenten und der Kryostat dürfen vorgegebene Containergrenzen nicht überschreiten. Des Weiteren muss der Kryostat des Spektrometers verlustarm, für den unbemannten Langzeitbetrieb geeignet sein und natürlich alle Sicherheitskriterien erfüllen. Ein einfaches Handling beim Probenwechsel, gut abgestimmte Probenköpfe sowie exakte Datenerfassung und Auswertung sind ebenfalls unverzichtbar.

Dass die in unseren Technologietransfer-Projekten entstandenen NMR-Spektrometer (750 MHz bis 900 MHz) den Kriterien der Kunden entsprechen, ist an der Weltmarktstellung Bruker BioSpins ab-

leitbar. Details über die technische Realisierung sind natürlich Industriegeheimnisse. Trotzdem soll an dieser Stelle kurz auf die erbrachten Leistungen der Wissenschaftler des Instituts für Technische Physik am Forschungszentrum bezüglich der Kryotechnik und des supraleitenden Magnetsystems eingegangen werden.

Die grundlegendsten Verfahren und Methoden im Bereich der Kryotechnik wurden schon im ersten Technologietransfer-Projekt bis 1991 erfolgreich entwickelt ([2], [3]) Die Aufgabe bestand einerseits darin, einen verlustarmen Kryostaten zu entwerfen, der im Gegensatz zu den damals üblichen 4,2 K flüssig Helium (LHe)-Badkryostaten der Spektrometer bei einer tieferen Betriebstemperatur von 2,17 K, der so genannten Lambdatemperatur T_λ von Helium, arbeitet. Hierzu wurde in vielen Experimenten eine optimale Lösung für eine Unterkühleinheit mit Joule-Thomson-Ventil, Wärmetauscher, thermischer Barriere und einem Innenrohr auf Raumtemperatur in Verbindung mit sehr geringen Verlusten des Kryostaten im 100-mW-Bereich gefunden, so dass zuverlässig T_λ als Magnetbadtemperatur eingestellt werden kann. Durch ein ausgeklügeltes Design in Verbindung mit den notwendigen Sicherheitseinrichtungen für den Quenchfall (spontaner Übergang vom supraleitenden in den normalleitenden Zustand mit gleichzeitiger Thermalisierung der gespeicherten magnetischen Energie) und eines störungsfreien Langzeitbetriebs (redundante Pumpen mit USV-Versorgung) ist ein komfortables Kryostatkonzept entstanden, das bei allen NMR-Generationen bis zu den

heutigen modernen 950-MHz-NMR-Spektrometern beibehalten wurde.

Des Weiteren wurde ein leistungsstarker Versuchsstand, die Magnet-Test-Anlage MTA I, zum Test der Magnetsysteme im Langzeitbetrieb aufgebaut. Die Magnetsysteme konnten so auf ihre zeitliche Stabilität und räumliche Homogenität sowie auf ihr generellen Verhaltens z. B. beim Quench hin überprüft werden. Durch ihren relativ einfachen Aufbau ist MTA I ein ideales Testbett. In ihr sind alle ersten Spektrometer der verschiedenen Frequenzklassen bis 900 MHz getestet worden und konnten so in die Serienproduktion überführt werden.

Die Realisierung der supraleitenden Magnetsysteme umspannt ein sehr großes Kompetenzfeld. Einen einfachen und kompakten Überblick über die Komplexität soll Abb. 3 vermitteln.

Jeder Zweig dieser Grafik stellt schon für sich allein genommen eine enorme Herausforderung an die technische Machbarkeit dar. Wird ein neues Magnetsystem entwickelt, müssen immer alle Punkte genau durchdacht, bearbeitet und vor allem aufeinander abgestimmt werden.

Das Hauptaugenmerk bei der hochauflösenden NMR liegt dabei auf den zentralen Fragestellungen: Wie kann mit kommerziellen technischen Supraleitern die gewünschte Zentralfeldstärke unter Berücksichtigung der auftretenden hohen elektromechanischen Kräfte erreicht werden? Wie kann mit diesen Supraleitern die räumliche Homogenität und die zeitliche Stabilität von 1 Hz/h,

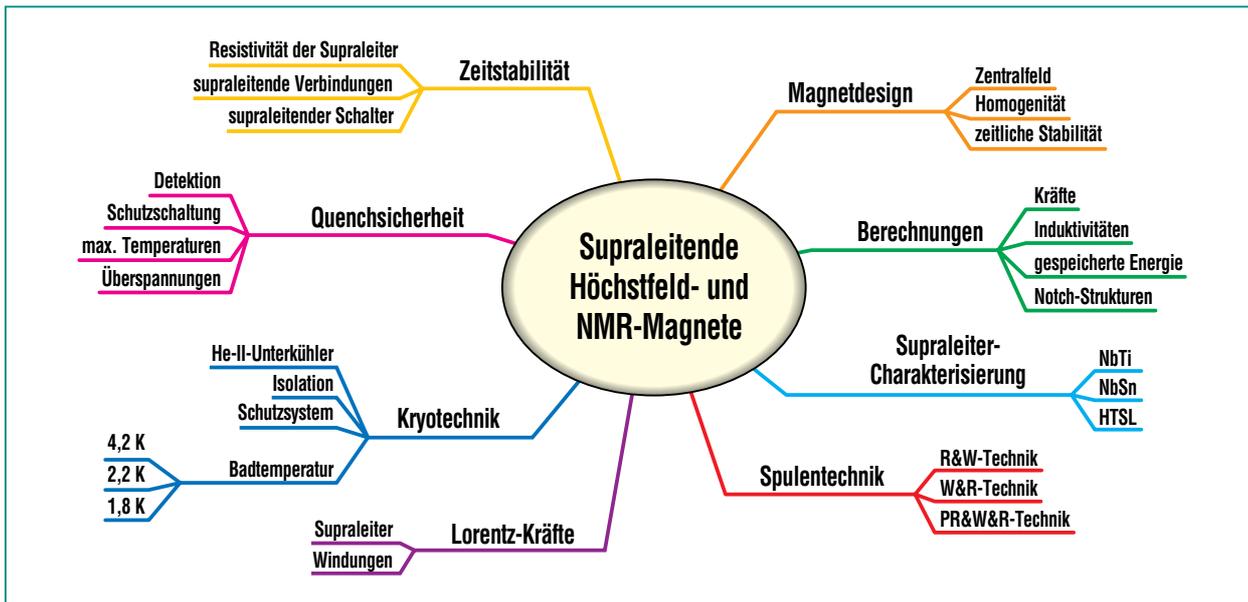


Abb. 3: Komplexität beim Bau supraleitender Höchstfeld- und NMR-Magnete.

was einem Gesamtwiderstand des Magnetsystems kleiner als $10^{-10} \Omega$ entspricht, erzielt werden?

Auch hier konnten sehr viele wichtige Details und Technologien z. B. in der Spulentechnik, Arbeitsvorschriften z. B. bei der Herstellung der Spulenkörper hinsichtlich den Maßhaltigkeiten oder beim Wickelzug, Berechnungsroutinen zur Magnetfeldberechnung oder das Schutznetzwerk im ersten Technologietransfer-Projekt erarbeitet werden. Vor allem aber konnte die Forderung nach zeitlicher Stabilität und Kompaktheit des Systems durch die Entwicklung hoch präziser Mess- und Auswerteroutinen zur Charakterisierung der Strom-Spannungskennlinie (U(I)-Kennlinie) der Supraleiter und neue, innovative Technologien zur Herstellung von supraleitenden Schaltern und supraleitenden Verbindungen [4], die das nahezu gleiche U(I)-Verhalten wie die Supraleiter aufzeigen, erfüllt werden.

Das Wissen und die Erfahrung über die gesamte Spulenfertigung, Quenchsicherheit, supraleitende Schalter, etc. ist wiederum auf die nachfolgenden Spektrometertypen übertragen worden. Jedoch erfüllen diese Spektrometer die Spezifikation nur, weil Kenntnisse über das physikalische Verhalten der Supraleiter, die in den Experimentieranlagen des Hochfeldlabors am ITP nahezu unter Betriebsbedingungen ermittelt werden können, vorliegen und angepasste, optimierte supraleitende Verbindungen vorhanden sind.

Supraleitende Höchstfeldmagnete – Hochfeldlabor des Instituts für Technische Physik

Die Erfolge in der Entwicklung supraleitender Magnetsysteme für die NMR-Spektroskopie waren ohne den vorangegangenen Aufbau der supraleitenden Labormagnete JUMBO und HOMER I nicht mög-

lich. Der Weltrekord von 20,1 T in einer freien Bohrung von 30 mm zeigte schon 1987 das Potenzial des supraleitenden Magnetbaus. JUMBO und HOMER I werden bis heute im Routinebetrieb eingesetzt. Sie sind unverzichtbare Werkzeuge bei den laufenden Technologietransfer-Projekten zur Entwicklung eines 1000-MHz-NMR-Spektrometers und stehen als Testbett in verschiedenen Kooperationen den Wissenschaftlern z. B. von IEKP und ISS/ANKA, der Siemens AG und GSI Darmstadt zur Verfügung.

Um die Grenzen des Machbaren auszuloten, ist derzeit die neueste Hochfeldexperimentieranlage HOMER II im Aufbau. Mit HOMER II wird das Ziel verfolgt, ein supraleitendes Magnetsystem (sole-noidförmige Spulen) mit einer Zentralfeldstärke von 25 T in einer freien Bohrung von 50 mm Durchmesser zu erstellen. Die erste enorm hohe Hürde auf dem Weg dorthin konnte im Juli 2006 über-

wunden werden. HOMER II hat als weltweit erstes, rein supraleitendes Magnetsystem in einer freien Bohrung von beachtlichen 185 mm Durchmesser eine Magnetfeldstärke von 20 T erreicht. Mit der bei 20 T und dem Durchmesser von 185 mm auftretenden Lorentzkraft ist diese Anlage sehr nahe an den Grenzen der mechanischen Belastbarkeit der kommerziell verfügbaren monolithischen $(\text{NbX})_3\text{Sn}$ Multifilamentsupraleiter (Supraleiterhersteller und -lieferant: European Advanced Superconductors EAS in Hanau (früher Vacuum-

schmelze VAC)). Mit HOMER II konnte wiederum eine Weltbestleistung aufgestellt werden, und er übernimmt damit wieder eine Vorreiterrolle.

Das Magnetsystem von HOMER II (Abb. 4) besteht aus zwei äußeren NbTi-Hintergrund-Solenoiden und drei $(\text{NbTaTi})_3\text{Sn}$ -Einsatzspulen. Die Weltrekordleistung ist nur erreichbar, wenn das Magnetsystem auf 1,8 K abgekühlt wird, da die mit abnehmender Temperatur steigende kritische Stromdichte im magnetischen Feld höhere Magnetströme und damit höhere Ma-

gnetsfelder zulässt. Die Kryostattechnik, die schon bei HOMER I eingesetzt und auf die NMR-Spektrometer-Kryostate prinzipiell übertragen wurde, kommt auch hier zum Einsatz. Das LHe-Bad ist durch eine thermische Barriere in zwei Räume aufgeteilt, wobei oben eine Temperatur von $T = 4,2$ K und unten die Temperatur des superfluiden Heliums herrscht. Diese Temperatur wird durch Abpumpen eines separaten He-II-Bades erreicht, das über einen Wärmetauscher die Energie aus dem Magnetbad aufnimmt.

Das gesamte Magnetsystem ist am ITP entwickelt und gebaut worden, wobei umfangreiche weiterführende Erfahrungen in der Handhabung und im Verhalten der klassischen Supraleiter NbTi und $(\text{NbTaTi})_3\text{Sn}$ bis zu ihren Grenzwerten hin gesammelt wurden. Dieses Know-how ist in die Technologietransfer-Projekte mit Bruker BioSpin eingeflossen und bildet vor allem die Grundlage für das Magnetdesign, die Supraleiterspezifikationen und die Fertigung der Leiter zum 1000-MHz-Projekt.

Zum weiteren Ausbau des Hochfeldlabors gehört der Neubau einer größeren Magnet-Test-Anlage (MTA II), mit der NMR-Magnetsysteme ab 900 MHz bis etwa 1200 MHz auf ihre Funktion und NMR-Tauglichkeit hin untersucht werden können. MTA II ist ein vertikaler Helium-Weithals-Badkryostat bestehend aus einem äußeren Vakuumbehälter, einem Stickstoffbehälter, einem 4-K-Schild und einem inneren Heliumbehälter mit einem Sitz für eine thermische Barriere. Die Anlage hat einen Außendurchmesser von ca. 2,6 m, einen

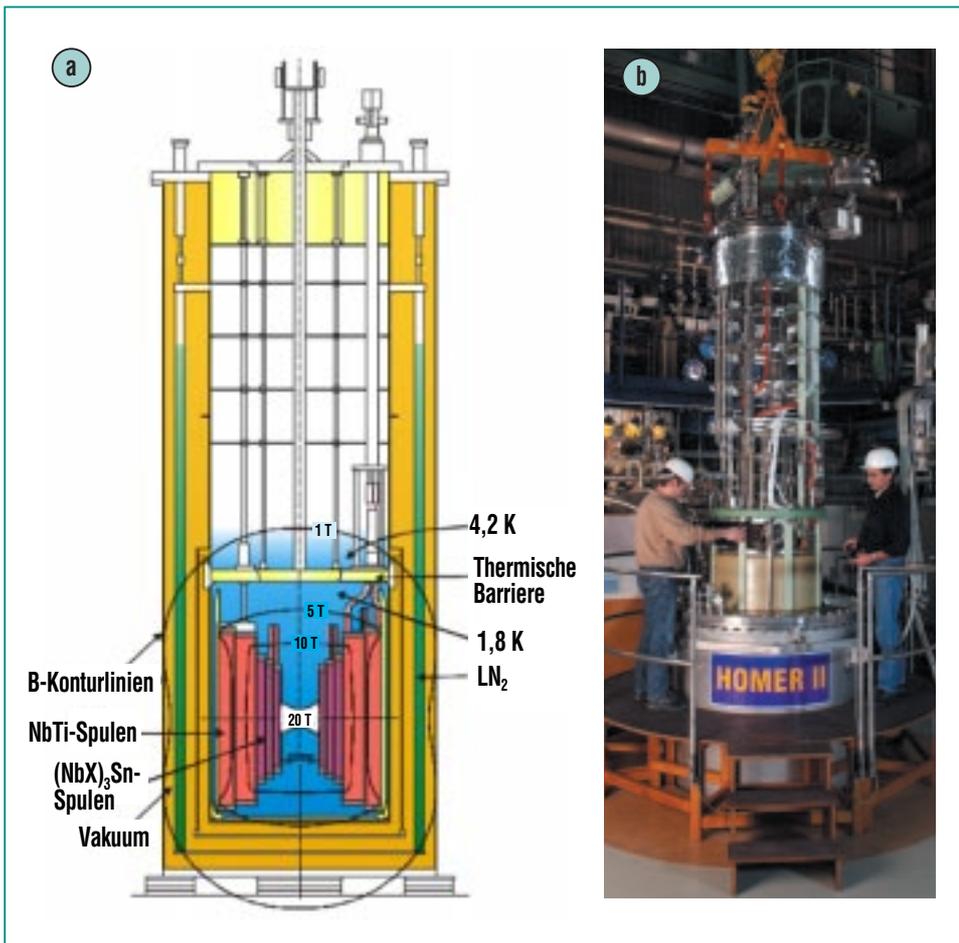


Abb. 4: Hochfeldexperimentieranlage HOMER II: a) Querschnitt durch die Experimentieranlage, b) HOMER-II-Magnetsystem beim Einbau in den Kryostaten.

Innendurchmesser von 1,2 m und eine Gesamthöhe von 5 m. Der Behälteraufbau ist abgeschlossen, und die ersten Dichtigkeits- und Temperaturtests ergaben zufriedenstellende Ergebnisse. Die Arbeiten zur kryogenen und elektrischen Versorgung sowie bezüglich der Schaltanlage und MSR-Technik sind am Laufen. MTA II wird voraussichtlich Ende 2008 in Betrieb gehen.

Zusammenfassung

Nach der über 20-jährigen Zusammenarbeit mit dem Industriepartner Bruker BioSpin in zahlreichen Technologietransfer-Projekten mit umfangreichen Kooperations- und Lizenzverträgen lässt sich eine sehr positive Bilanz ziehen. Es konnten mit den hochauflösenden NMR-Spektrometern

mit Protonenresonanzfrequenzen ≥ 750 MHz kommerzielle Produkte entwickelt und äußerst erfolgreich vermarktet werden. Bruker BioSpin konnte zum Weltmarktführer aufsteigen und so Arbeitsplätze in der Region Karlsruhe schaffen und erhalten. Durch die Übernahme des Supraleiterherstellers EAS ist ein weiterer Schritt in die Zukunft getan worden.

Die technische Realisierung der hochauflösenden NMR-Spektrometer ist die Grundlage für die wissenschaftlichen Erfolge der NMR-Anwender. Dies spiegelt sich in den Gründungen deutscher NMR-Kompetenzzentren in den letzten Jahren und der Verleihung von Preisen, wie der Nobel-Preis im Jahr 2002 an Prof. Dr. K. Wüthrich oder des Leibziger Wissenschaftspreises 2006 an Prof. Dr. J. Haase (MPZ Leipzig) wider.

Das Forschungszentrum ist durch die bisherigen Lizenzzahlungen und mit laufenden Lizenzverträgen über das Jahr 2015 hinaus an diesem Erfolg beteiligt. Mit der Hochfeldexperimentieranlage HOMER II und der neuen Magnet-Test-Anlage MTA II ist das Zentrum für die bevorstehenden Aufgaben gerüstet. Beide Partner wollen daher den Synergieeffekt ausnutzen und diese fruchtbare Zusammenarbeit fortsetzen.

Literatur

- [1] P. Turowski, Th. Schneider, *Physica B* 164 (1990), 3
- [2] Patentschrift DE 4039365 C2 (8-33)
- [3] Patentschrift DE 4039332
- [4] Patentschrift DE 4017553 C1 (7-34)