NMRの基礎1　ベクトルモデル

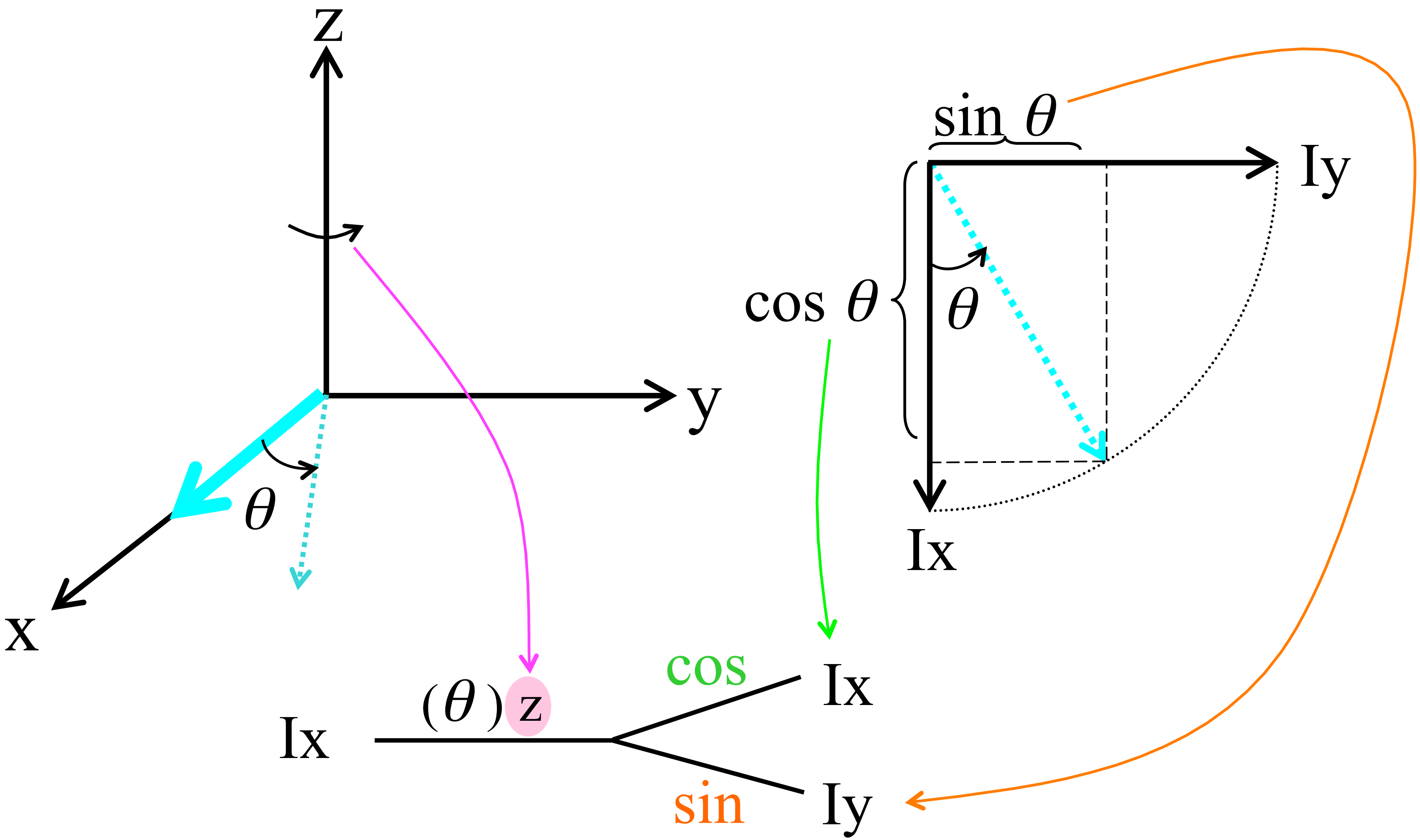
2007年7月20-22日
第8回　若手 NMR 研究会
岡崎市　桑谷山荘

大阪大学蛋白質研究所
構造プロテオミクス研究系
池上貴久

1スピン系での回転

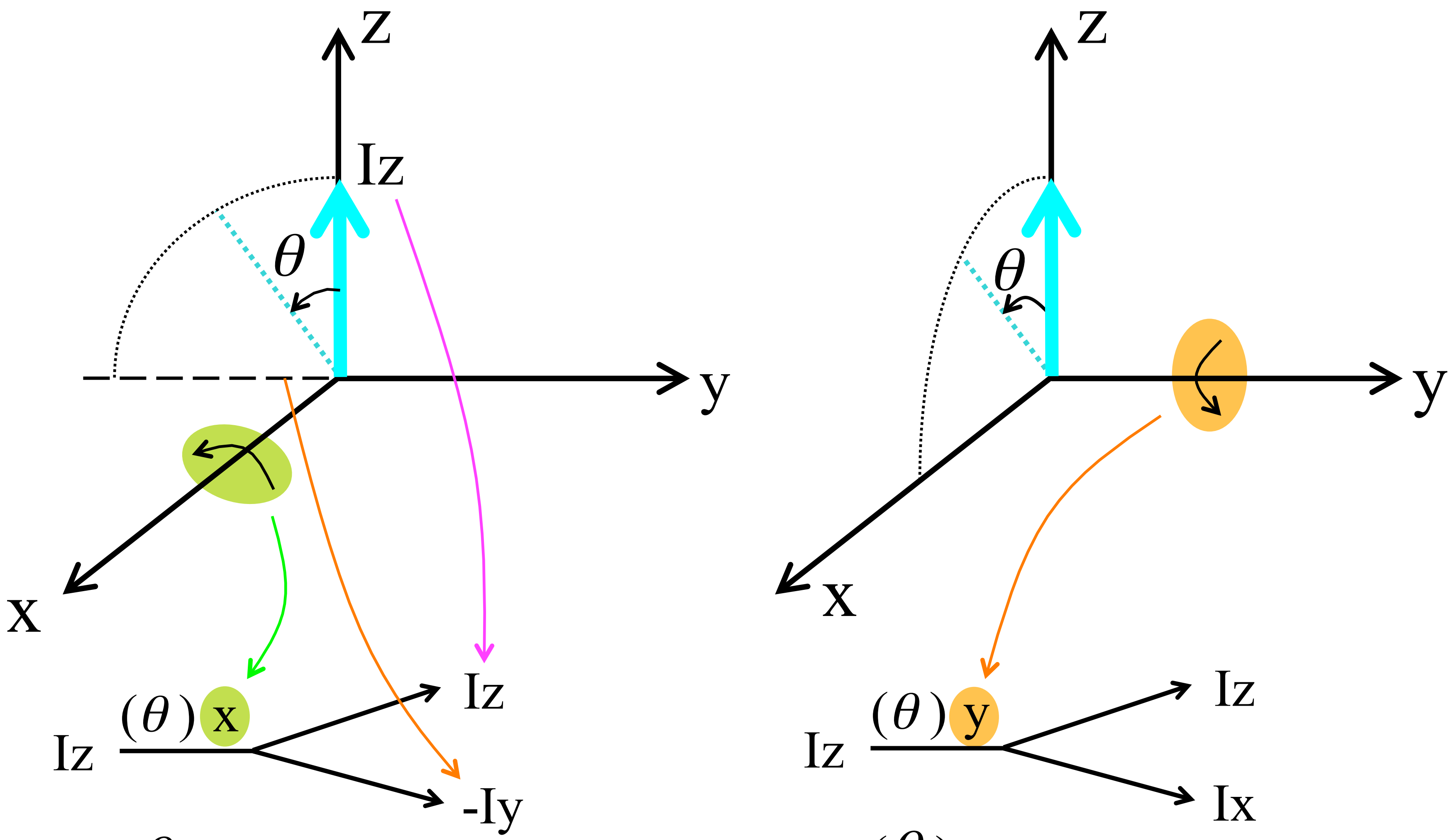
ベクトルモデルで回転を表す

回転を三角関数で表現する（z 軸回転）



$$Ix \xrightarrow{(\theta)\ z} Ix \cdot \cos\theta + Iy \cdot \sin\theta$$

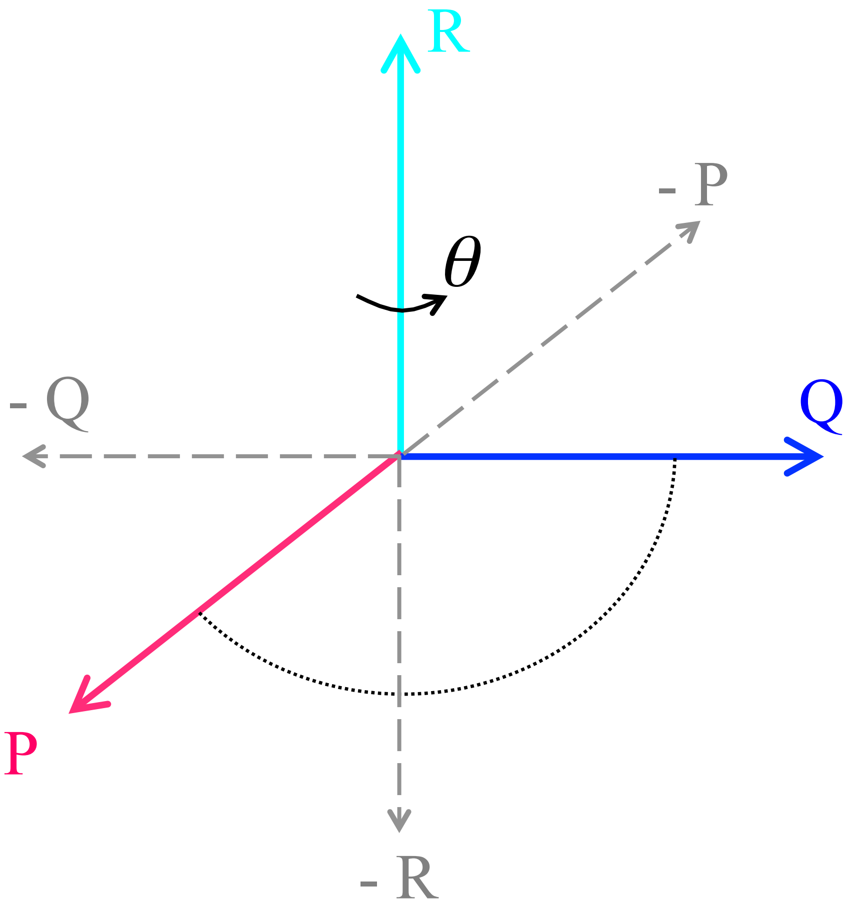
x 軸回転と y 軸回転



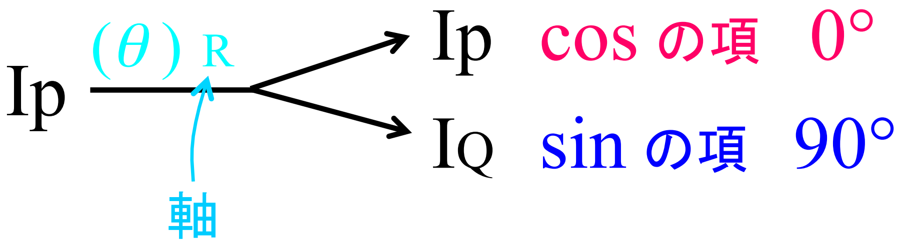
$$\mathrm{Iz} \xrightarrow{(\theta)\ \mathrm{x}} \mathrm{Iz} \cdot \cos\theta - \mathrm{Iy} \cdot \sin\theta$$

$$\mathrm{Iz} \xrightarrow{(\theta)\ \mathrm{y}} \mathrm{Iz} \cdot \cos\theta + \mathrm{Ix} \cdot \sin\theta$$

任意の軸での回転



$$I_p \xrightarrow{(\theta)\,R} I_p \cdot \cos\theta + I_Q \cdot \sin\theta$$

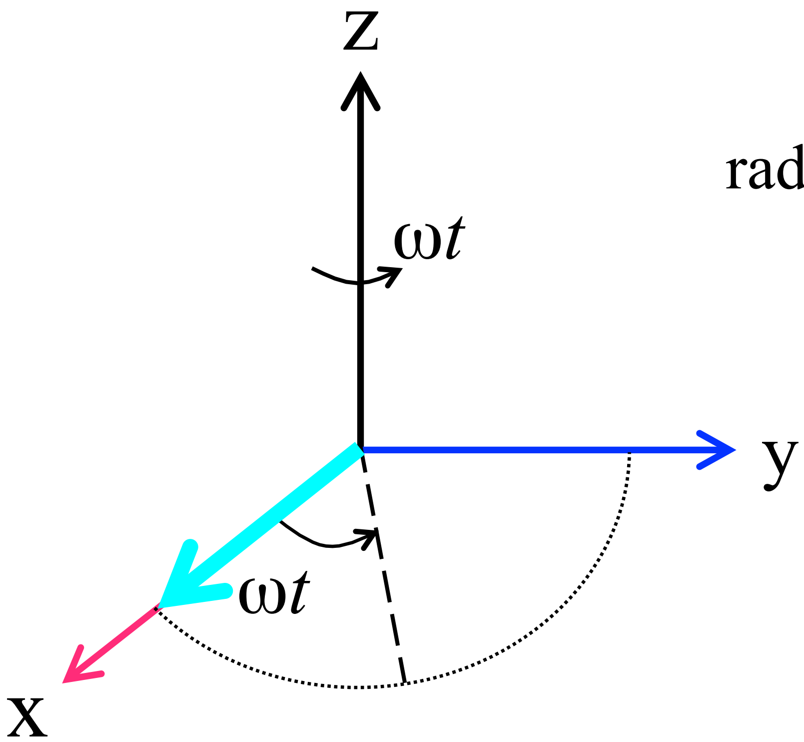


(補) θ か Q のどちらかに回転の向きを乗せる。
逆回転のとき - θ とするか $-I_Q$ とする。

NMR の基本は回転操作

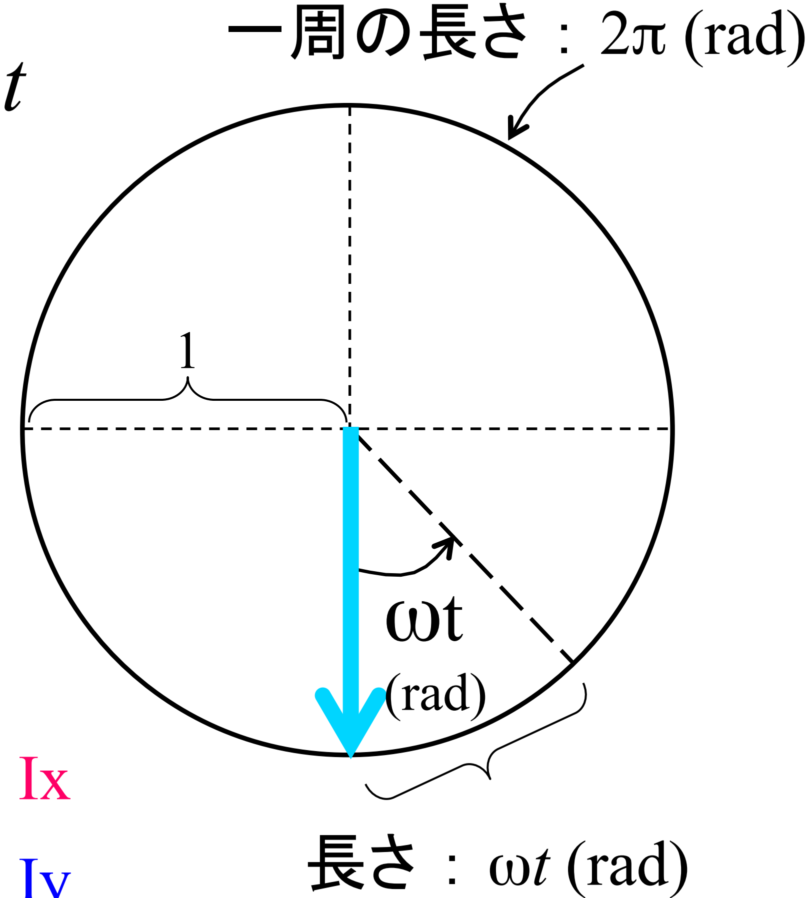
回転軸	反応
Z	・ σ 化学シフト (共鳴) (グラジエント) ・ *J* カップリング (ZZ) ・ *D* 残余双極子（異種核 ZZ）
X, Y	・ B_1 パルス
Z’, X’, Y’	・ magic 角試料回転（実験室座標系）

化学シフト＝Z 軸周りの回転



$$\theta = \omega t$$

rad / s

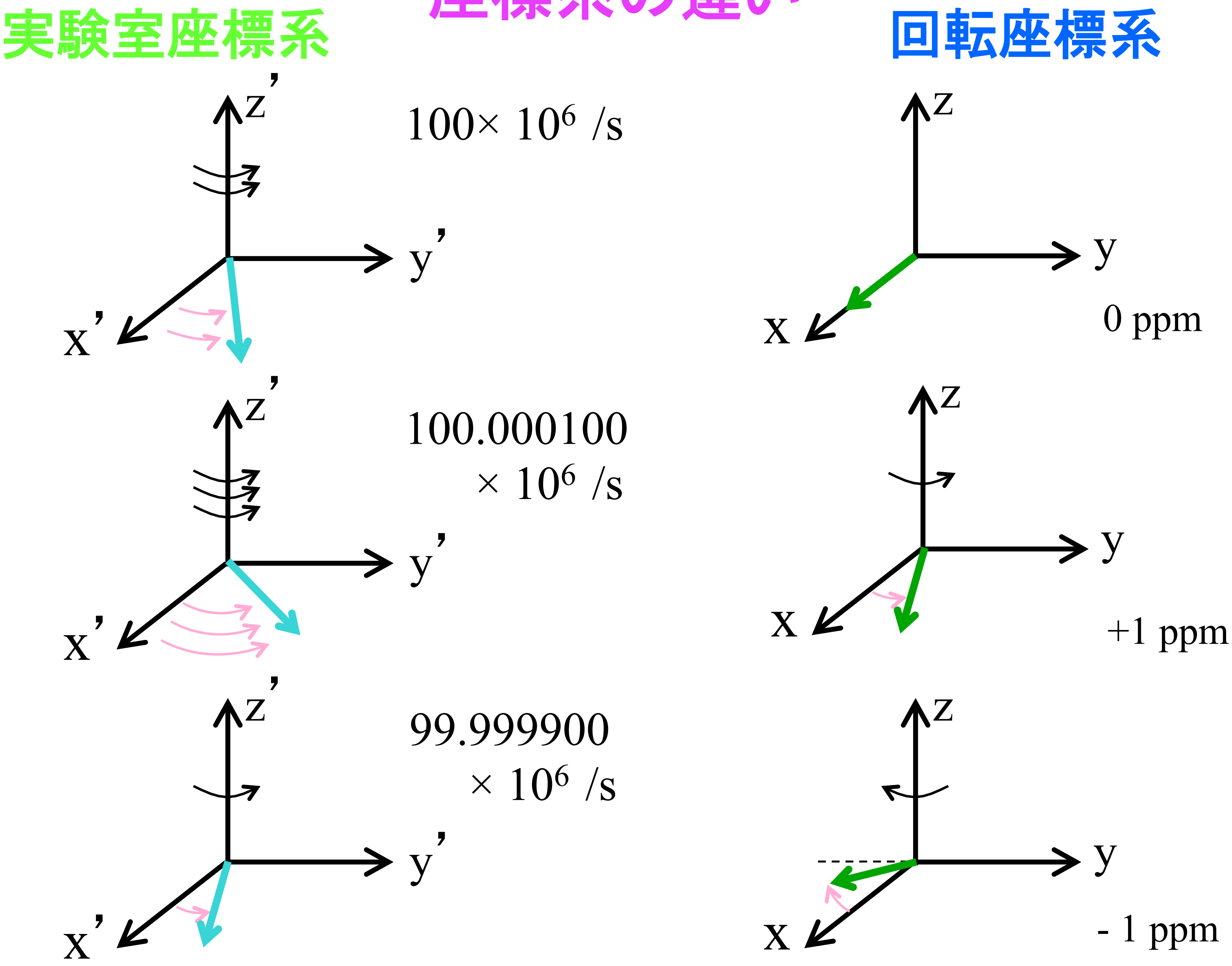


$$Ix \xrightarrow{(\omega t)\ z} \begin{cases} Ix \\ Iy \end{cases}$$

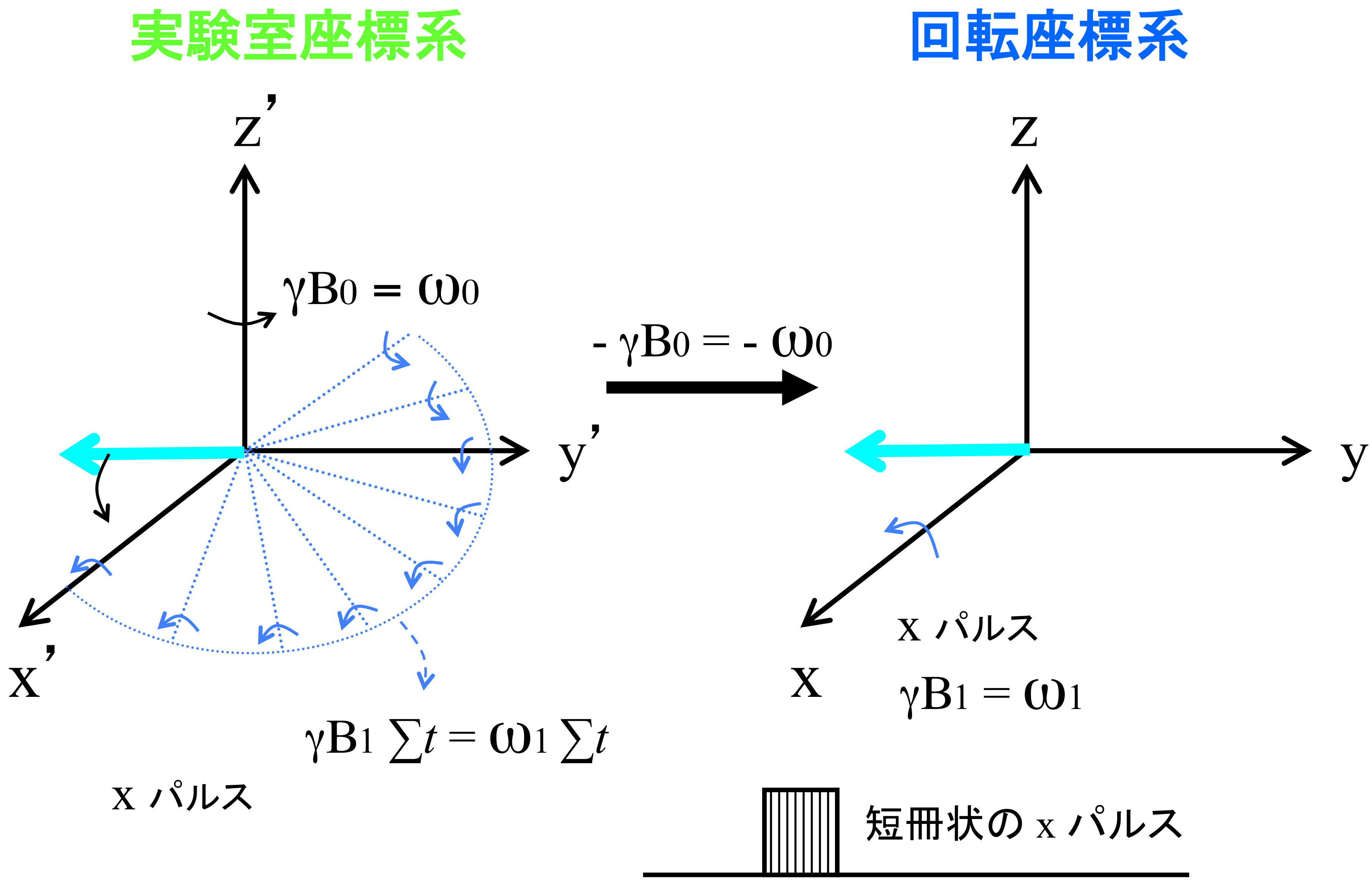
$$Ix \xrightarrow{(\omega t)\ z} Ix \cos(\omega t) + Iy \sin(\omega t)$$

$$\omega = 2\pi\nu = \gamma B_0 \sigma$$

座標系の違い


実験室座標系
回転座標系
z’
y’
x’
100× 10^6 /s
z
y
x
0 ppm
100.000100
× 10^6 /s
+1 ppm
99.999900
× 10^6 /s
- 1 ppm

パルス

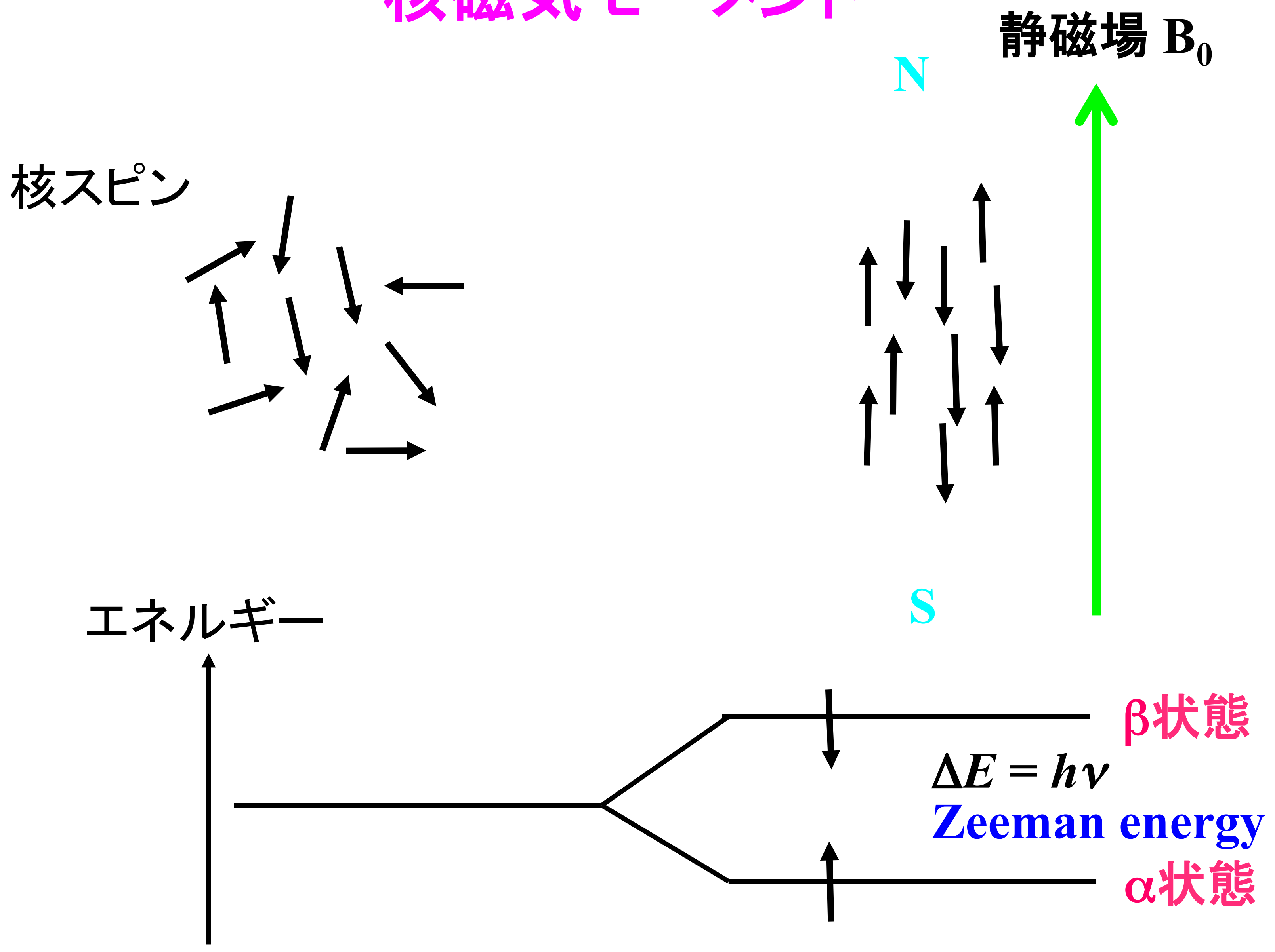


実験室座標系
回転座標系
z’
γB0 = ω0
y’
x’
γB1 ∑t = ω1 ∑t
x パルス
- γB0 = - ω0
z
y
x
x パルス
γB1 = ω1
短冊状の x パルス

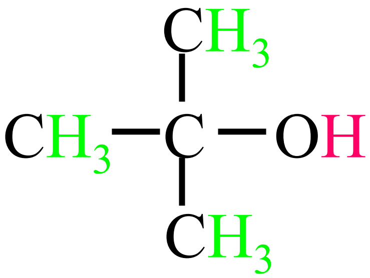
2 スピン系での回転

ベクトルモデルでスピンとスピンの J 相互作用を表す

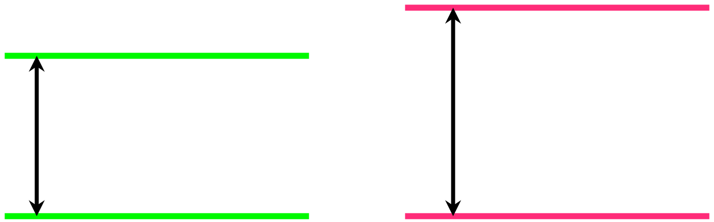
核磁気モーメント

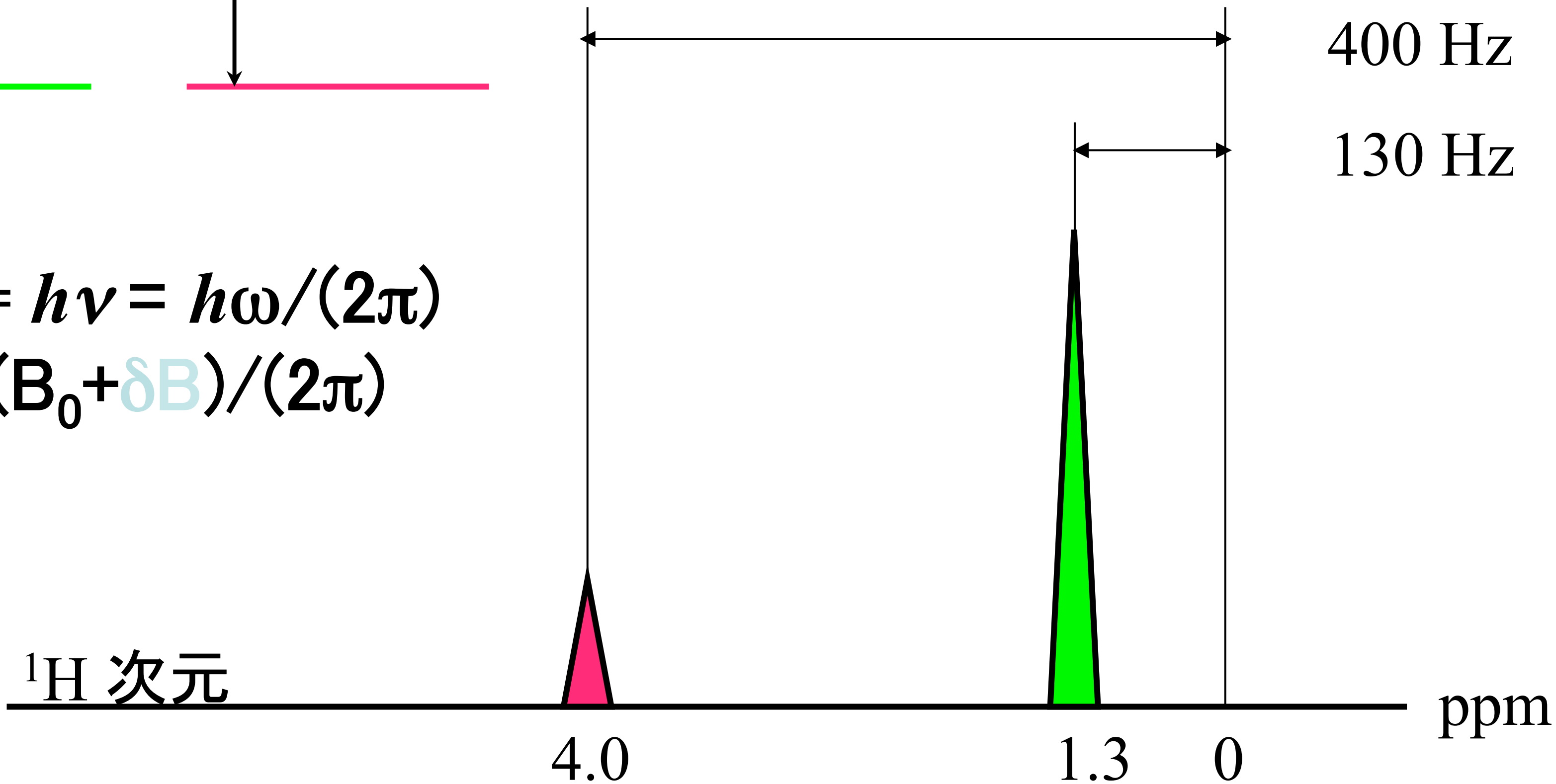


化学シフト



100 MHz = 2.35 T

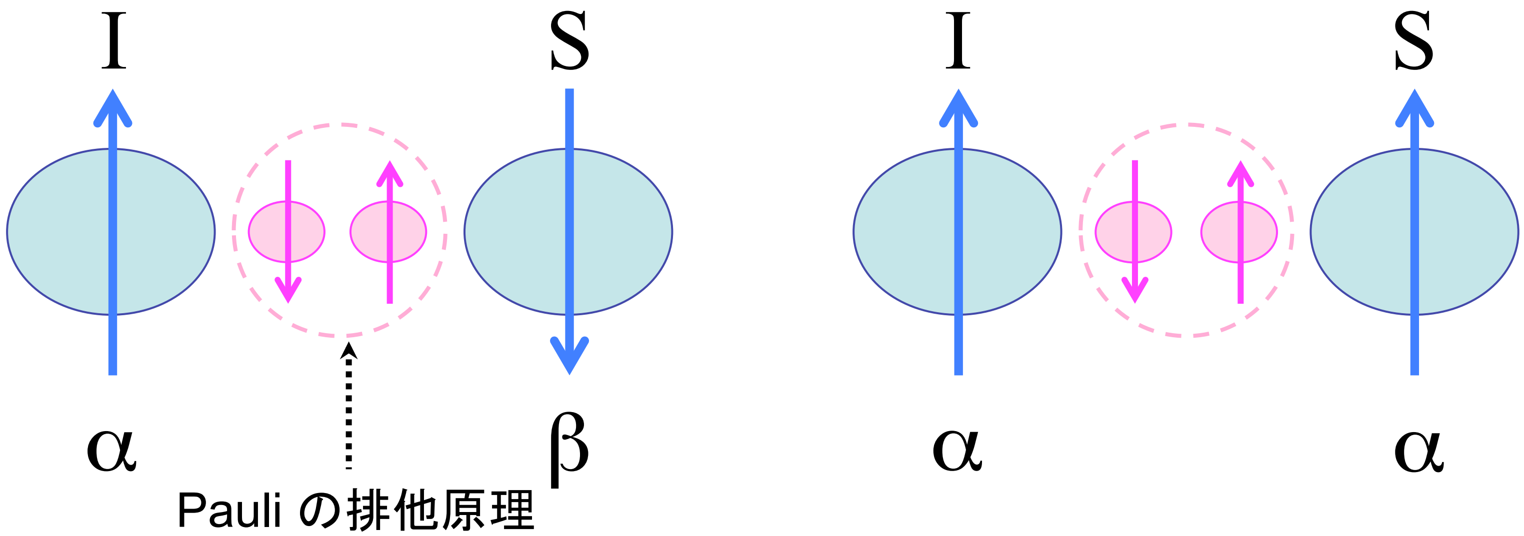




$$\Delta E = h\nu = h\omega/(2\pi)$$
$$= h\gamma(B_0+\delta B)/(2\pi)$$

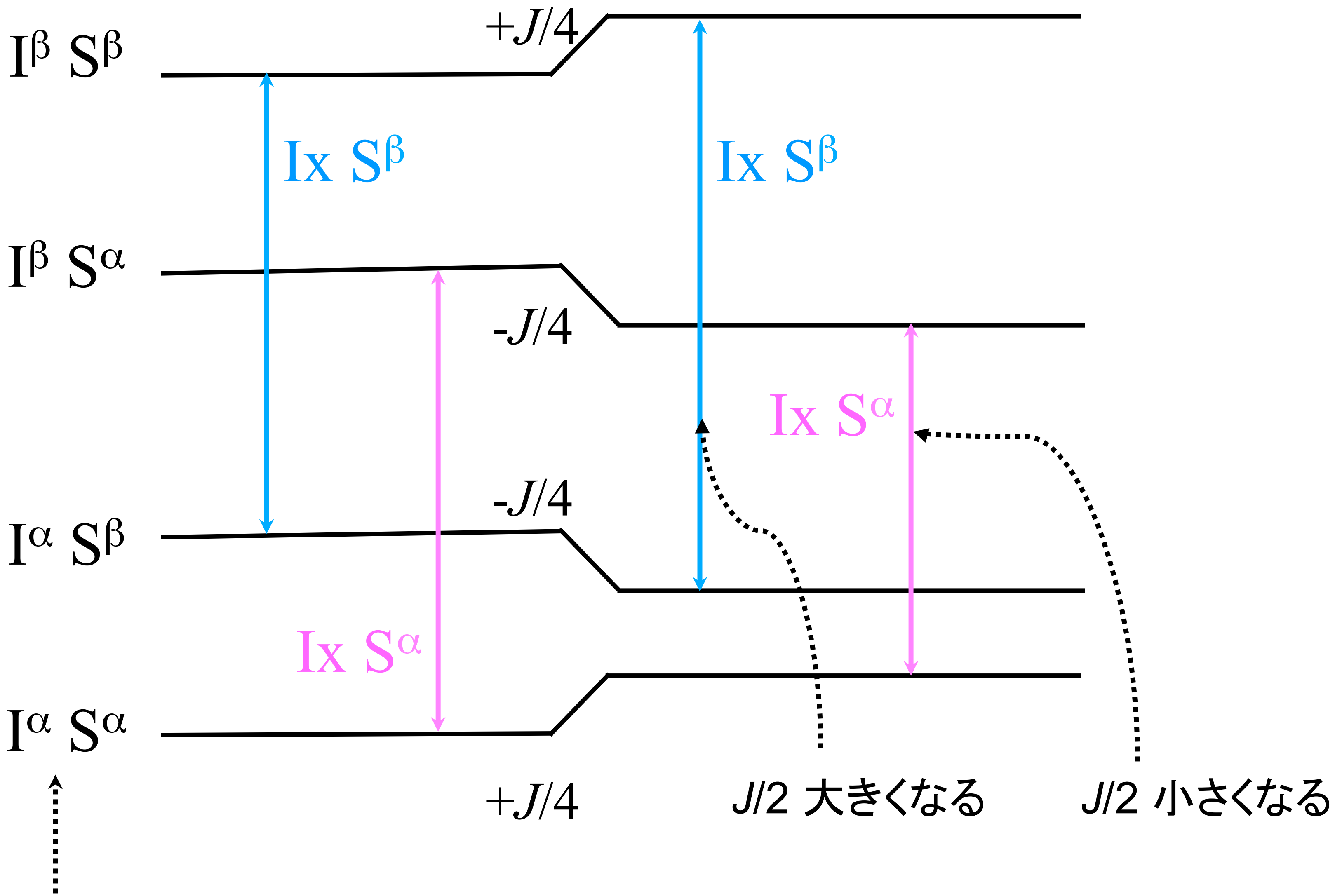
2 – スピン系

1 スピン　　　　　　　2 スピン
I　──────→　I - S　{ *J* カップリング (結合)
　　　　　　　　　　　　D カップリング (空間)



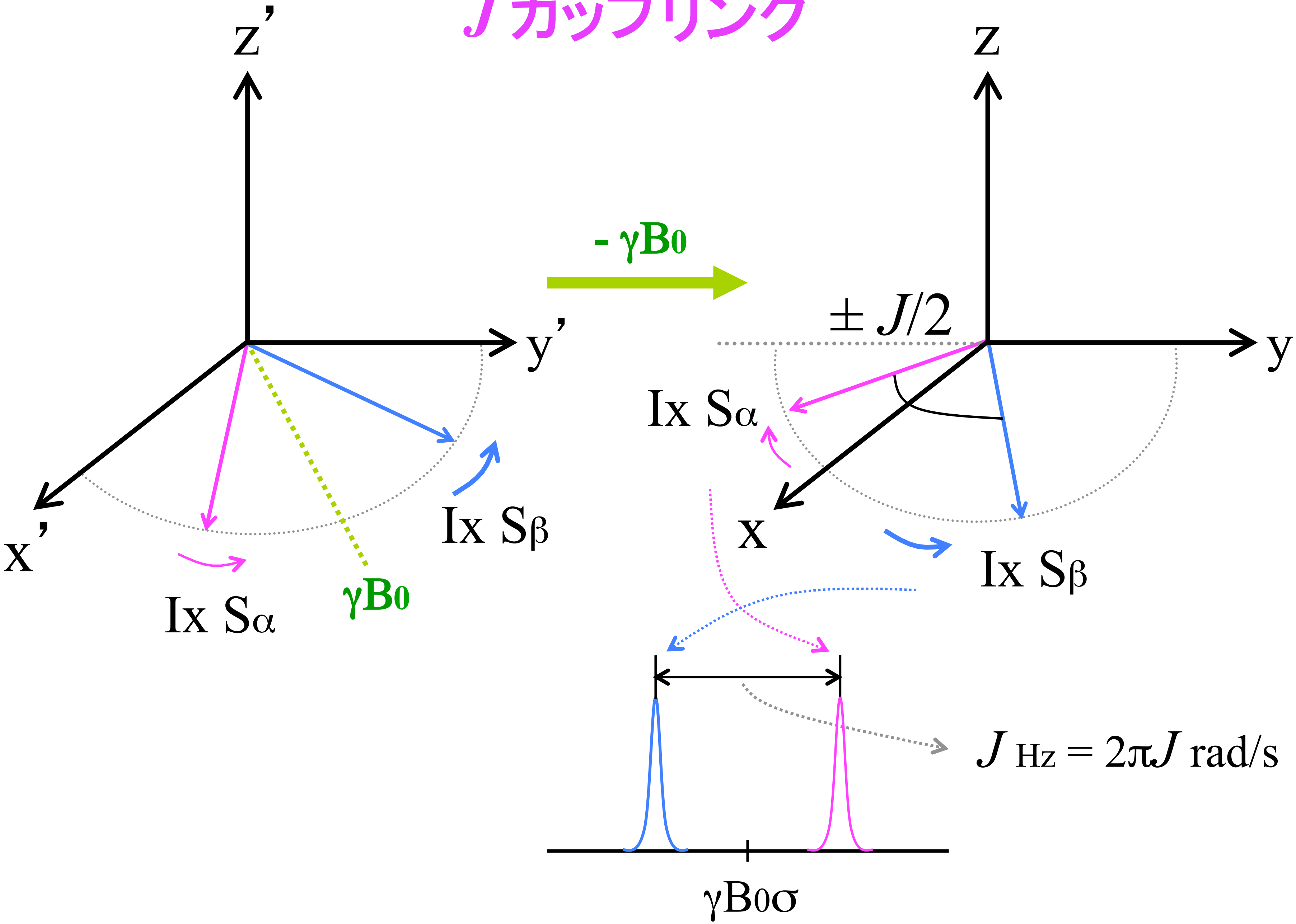
J/4 だけ安定　　　　*J*/4 だけ不安定

2 – スピン系でのエネルギー順位

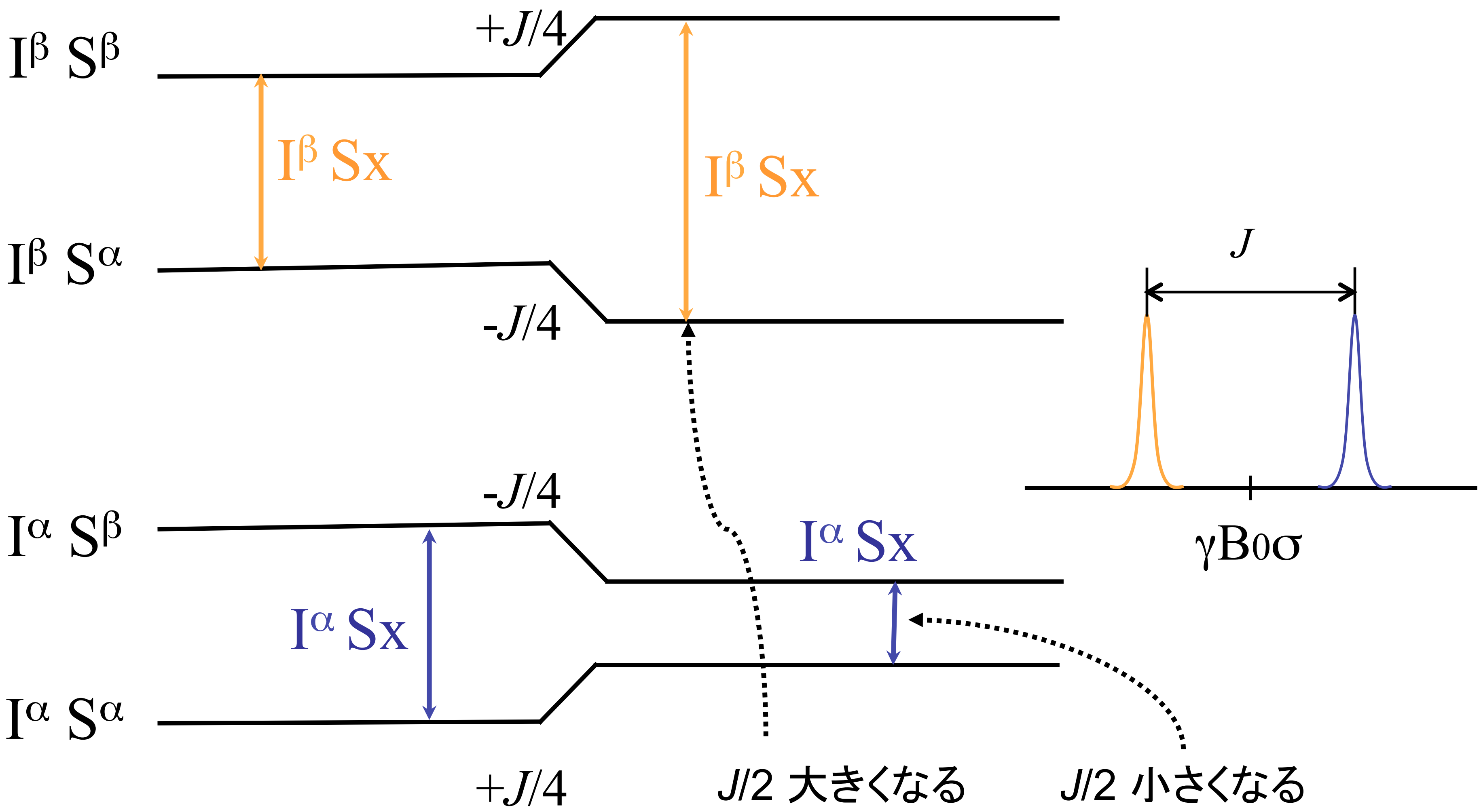


核スピンが静磁場と（逆）平行の方が（不）安定

J カップリング

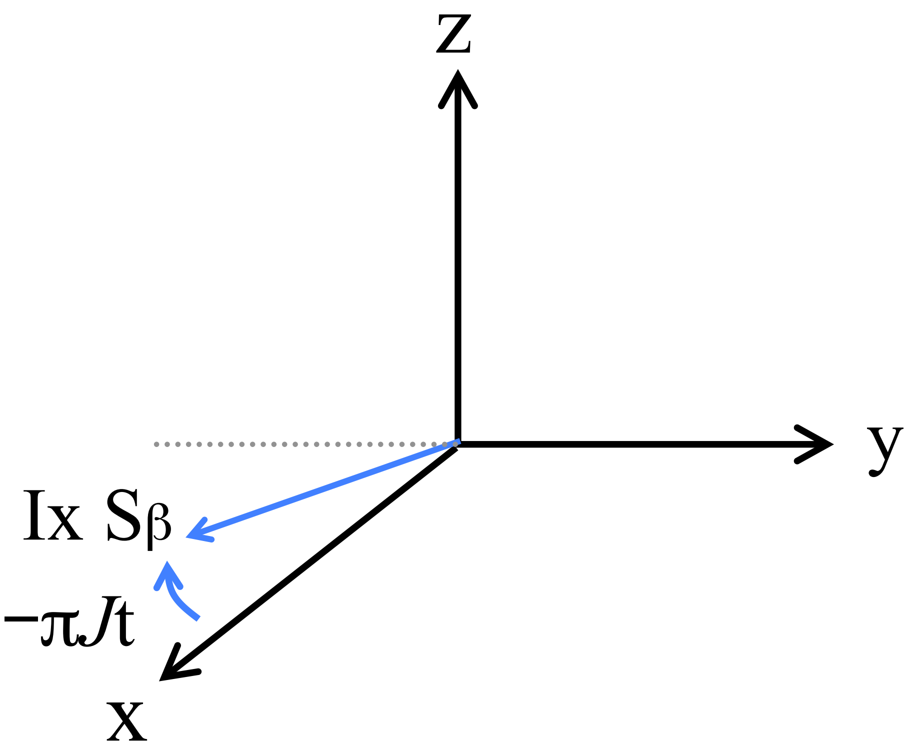


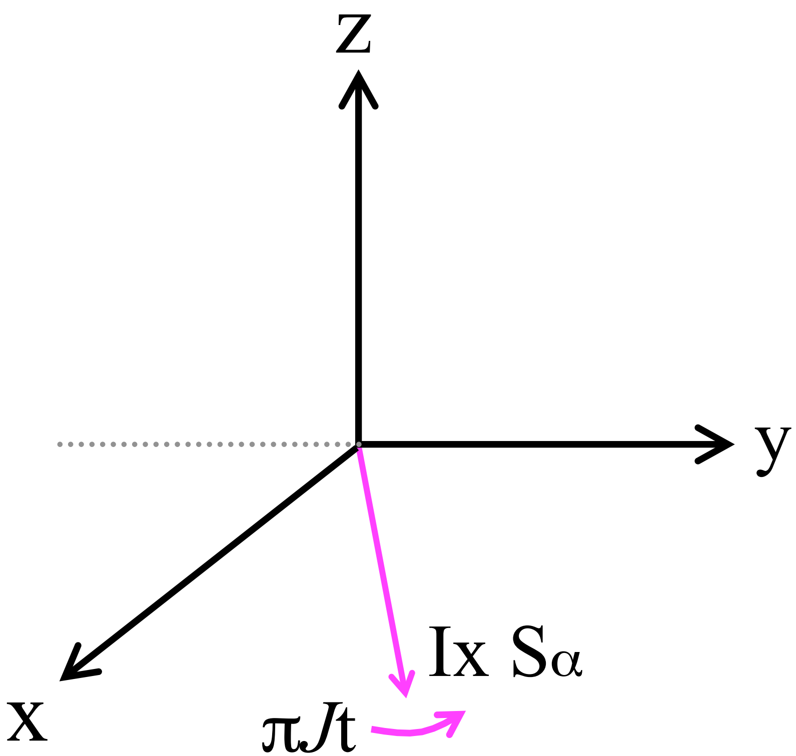
J カップリングは I, S どちらから測っても同じ



2 種類の I スピン

$\pm J/2$ Hz $= \pm \pi J$ rad/s





IxSβ $\longrightarrow$

$IxS\beta \cdot \cos(\pi J t) - IyS\beta \cdot \sin(\pi J t)$

$= IxS\beta \cdot \cos(-\pi J t) + IyS\beta \cdot \sin(-\pi J t)$

IxSα $\longrightarrow$

$IxS\alpha \cdot \cos(\pi J t) + IyS\alpha \cdot \sin(\pi J t)$

J カップリングの直積演算子

$$I_x S_\alpha \longrightarrow I_x S_\alpha \cos(\pi J t) + I_y S_\alpha \sin(\pi J t)$$

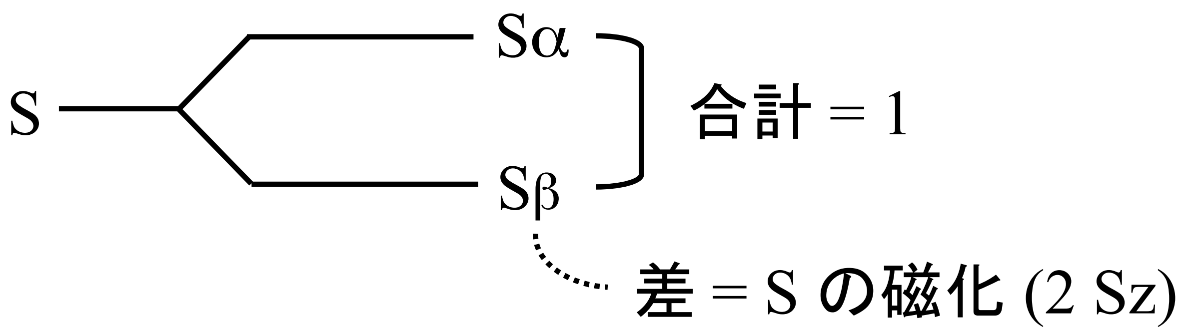
$$+)\quad I_x S_\beta \longrightarrow I_x S_\beta \cos(\pi J t) - I_y S_\beta \sin(\pi J t)$$

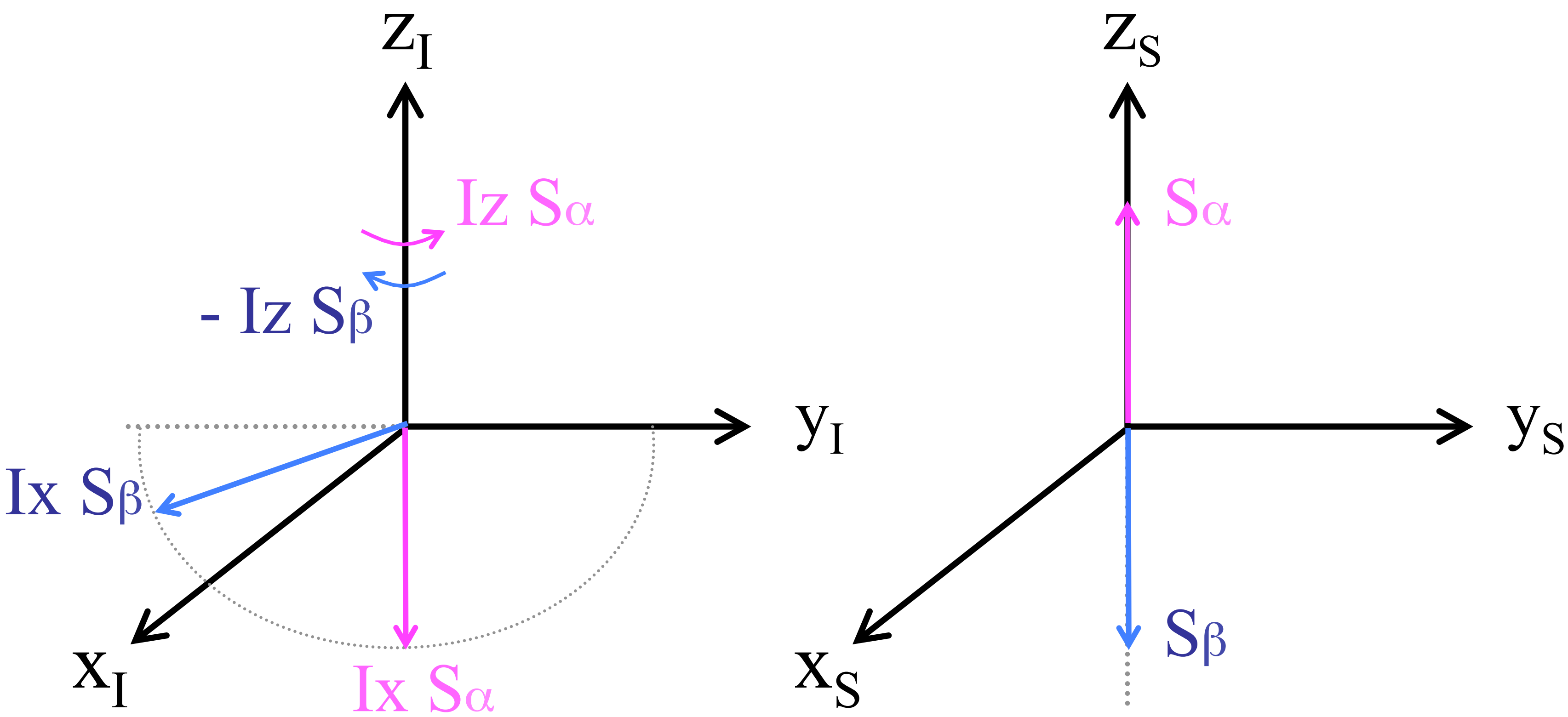
$$I_x (S_\alpha + S_\beta) \longrightarrow I_x (S_\alpha + S_\beta) \cos(\pi J t) + I_y (S_\alpha - S_\beta) \sin(\pi J t)$$

$$S_\alpha + S_\beta = 1$$

$$S_\alpha - S_\beta = 2\,S_z$$

$$I_x \longrightarrow \underline{I_x \cos(\pi J t) + 2\, I_y S_z \sin(\pi J t)}$$





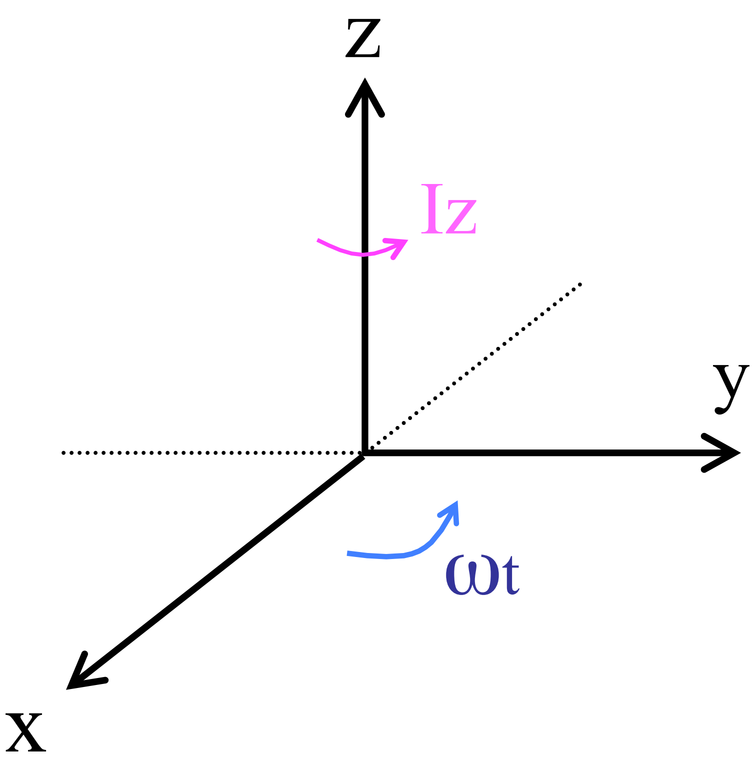
$$I_z S_\alpha - I_z S_\beta = 2\, I_z S_z$$

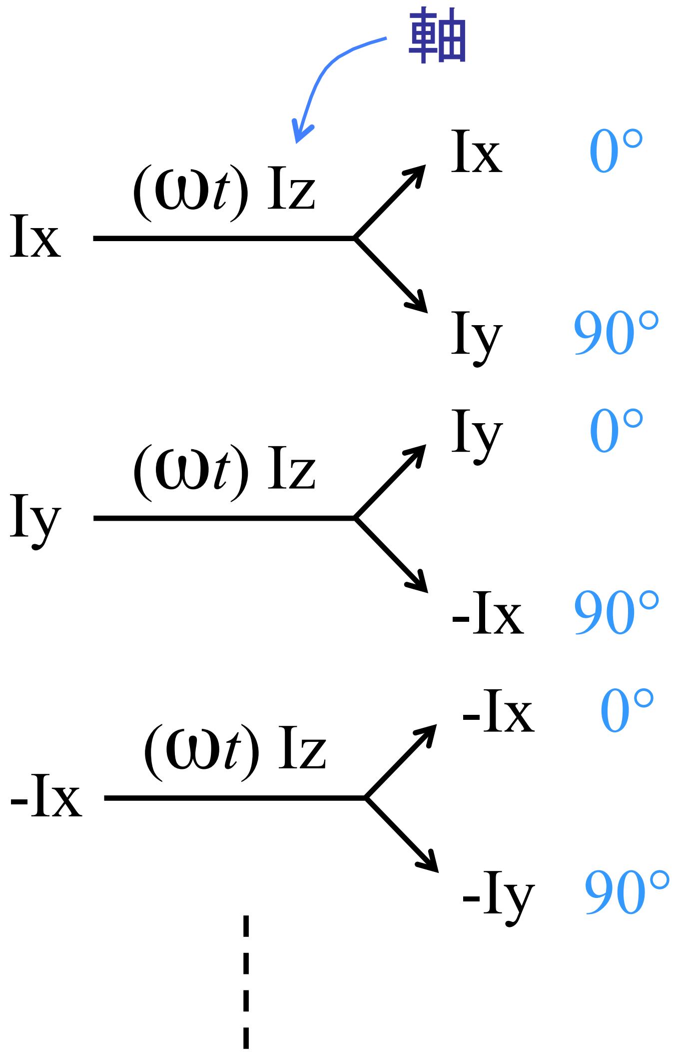
$$I_x \xrightarrow{(\pi J t)\, 2 I_z S_z} I_x \cdot \cos(\pi J t) + 2\, I_y S_z \cdot \sin(\pi J t)$$

$$I_x \xrightarrow{(\pi J t)\, 2 I_z S_z} I_x$$

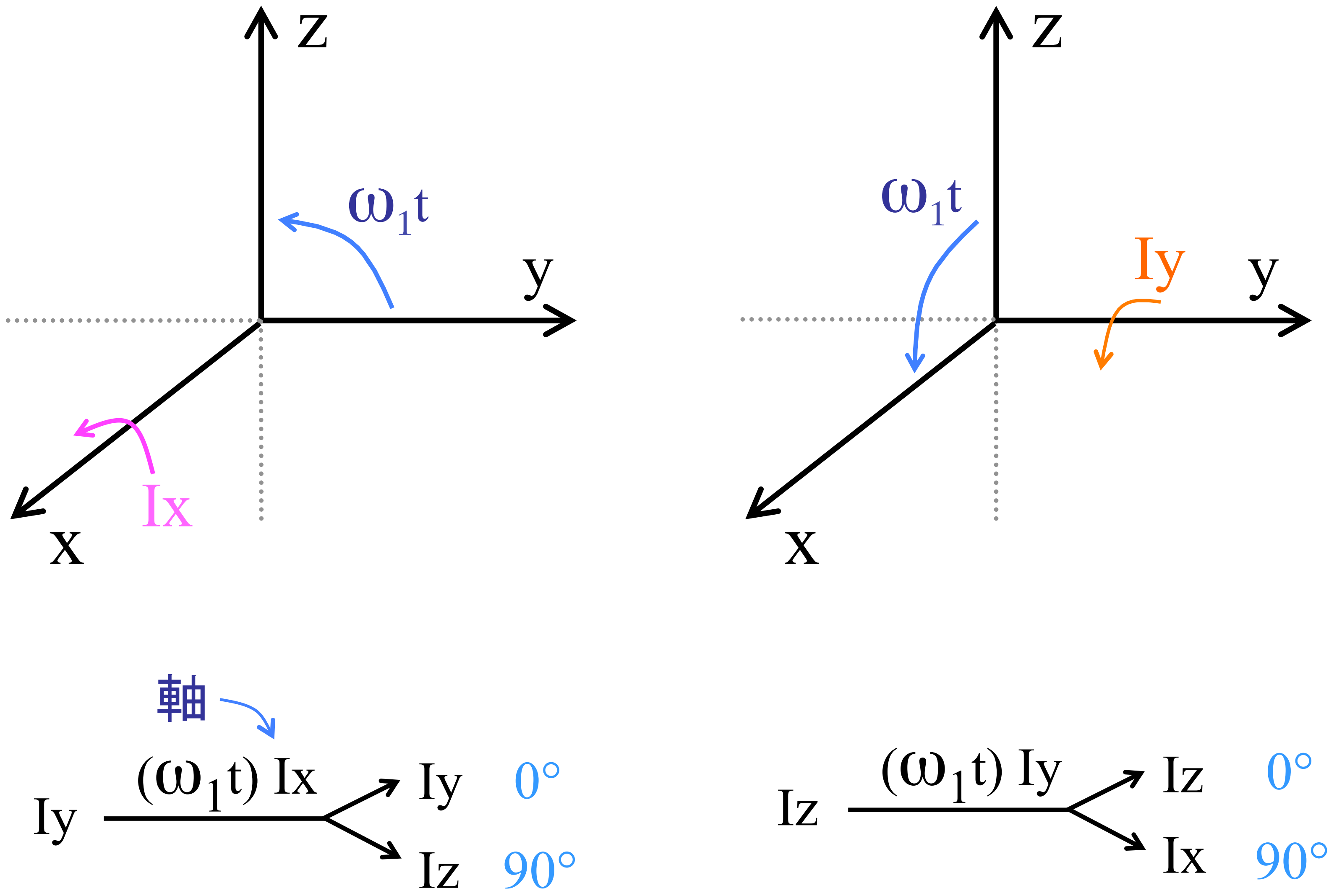
$$I_x \xrightarrow{(\pi J t)\, 2 I_z S_z} 2\, I_y S_z \;(\, t = 1/2J \,,\ \pi J t = \pi/2 \,)$$

NMR = 回転



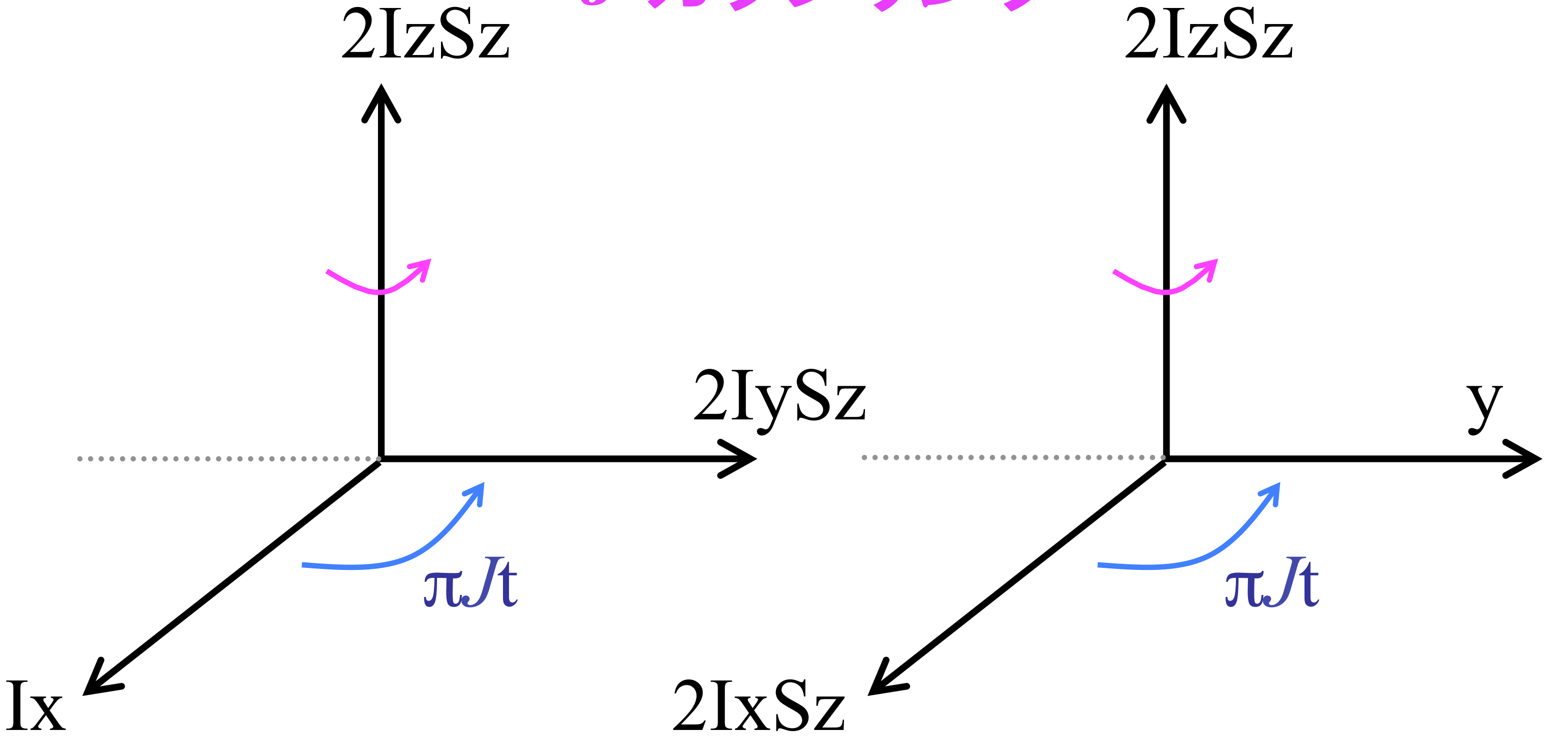


パルス

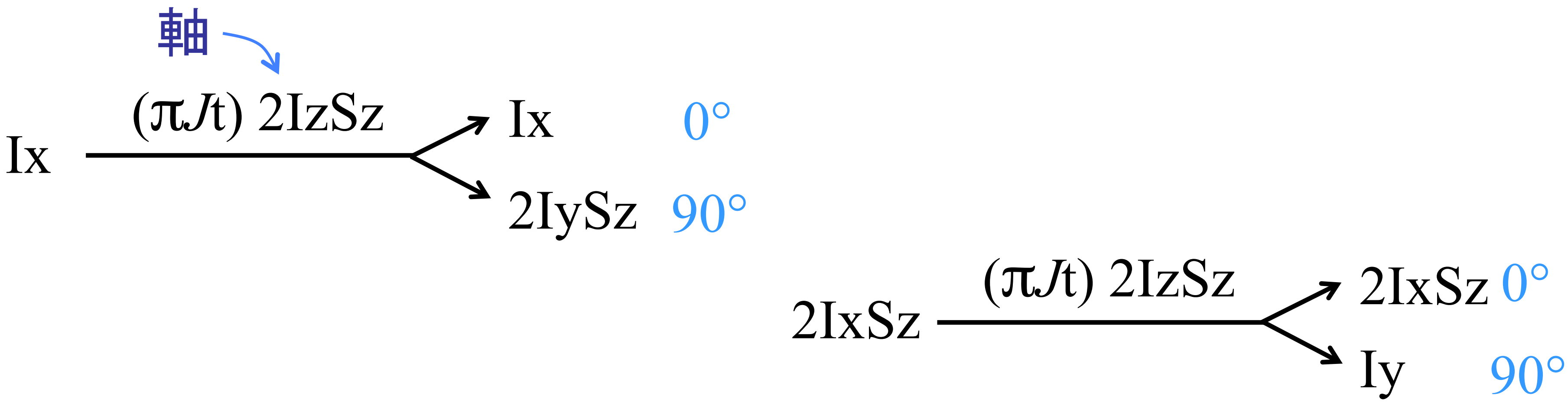


z
y
x
$\omega_1 t$
Ix
Iy
軸
Iy
$(\omega_1 t)$ Ix
Iy 0°
Iz 90°
Iz
$(\omega_1 t)$ Iy
Iz 0°
Ix 90°

J カップリング

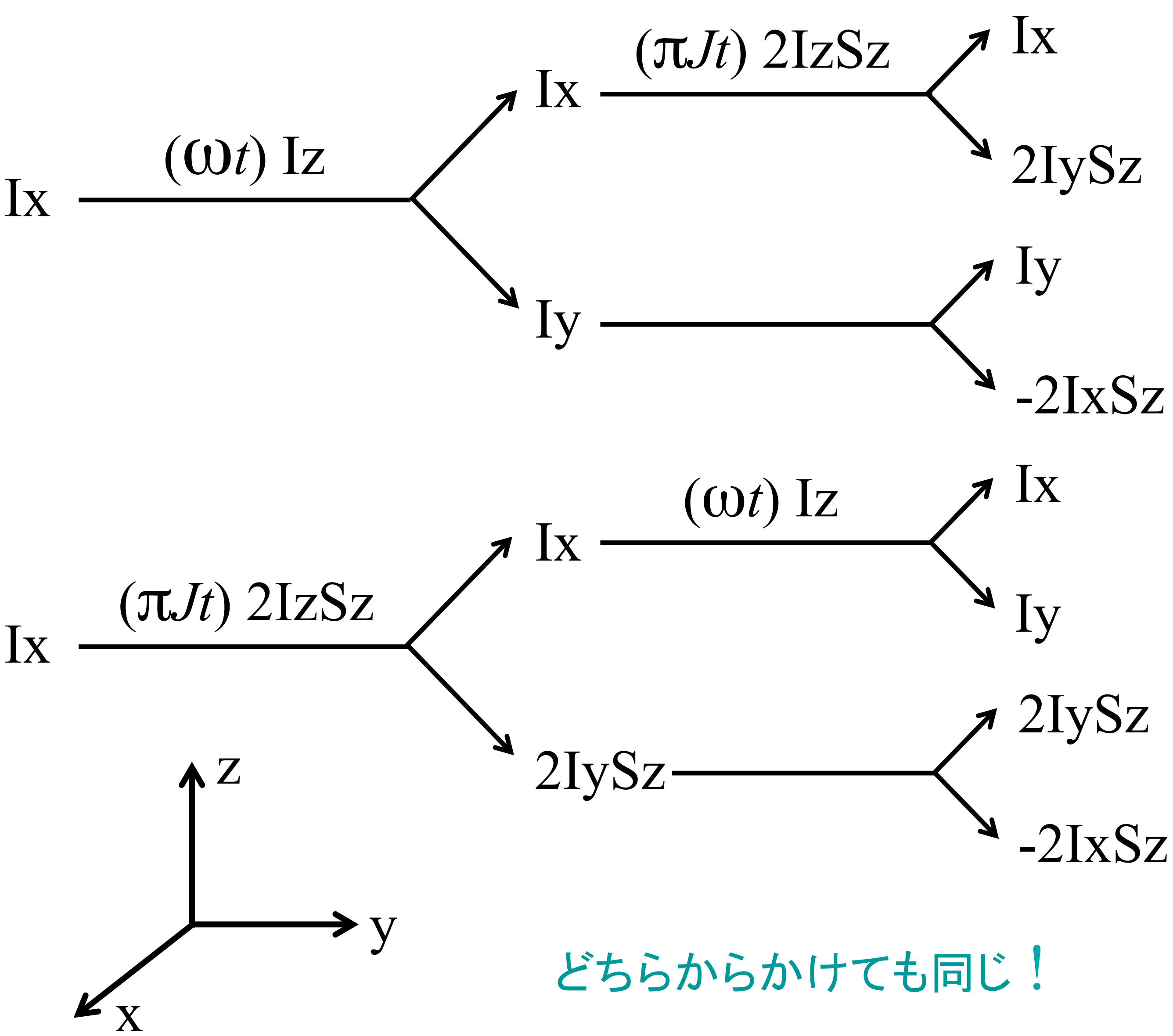


2IzSz
2IySz
πJt
Ix
2IzSz
y
πJt
2IxSz



軸
(πJt) 2IzSz
Ix
Ix 0°
2IySz 90°
(πJt) 2IzSz
2IxSz
2IxSz 0°
Iy 90°

化学シフト と *J* カップリング

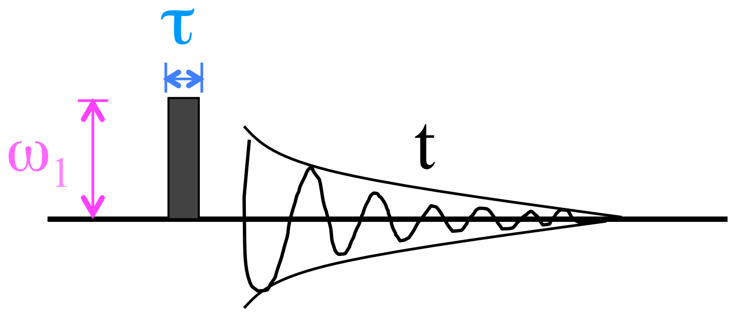


どちらからかけても同じ！

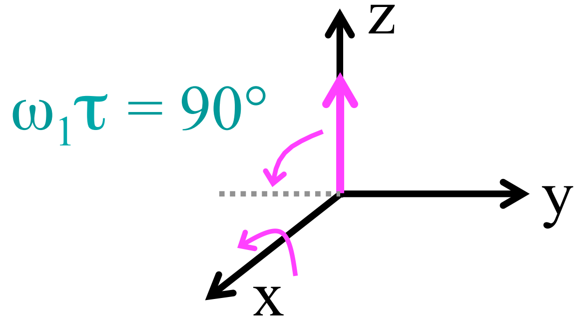
ハミルトニアンの回転

ベクトルモデルで平均ハミルトニアンを表す

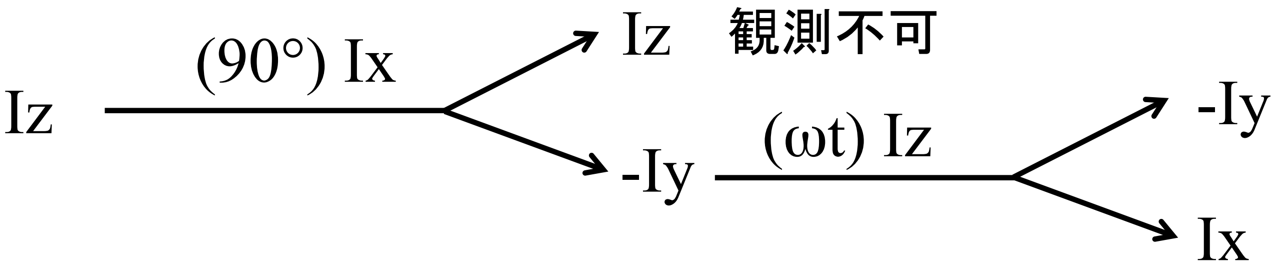
1 パルス ⟶ 検出の例



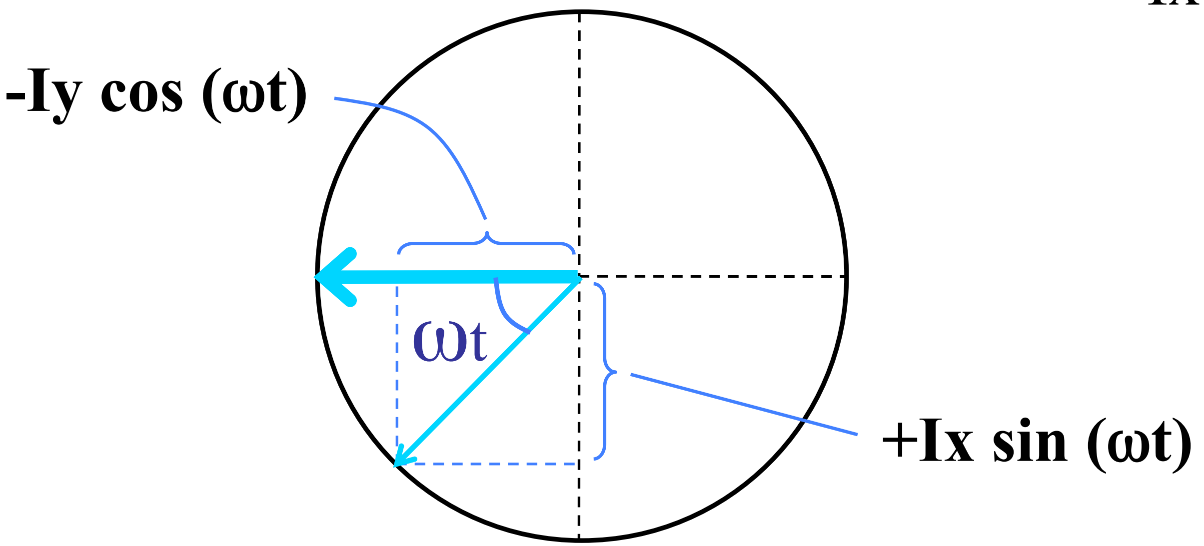
τ
ω1
t



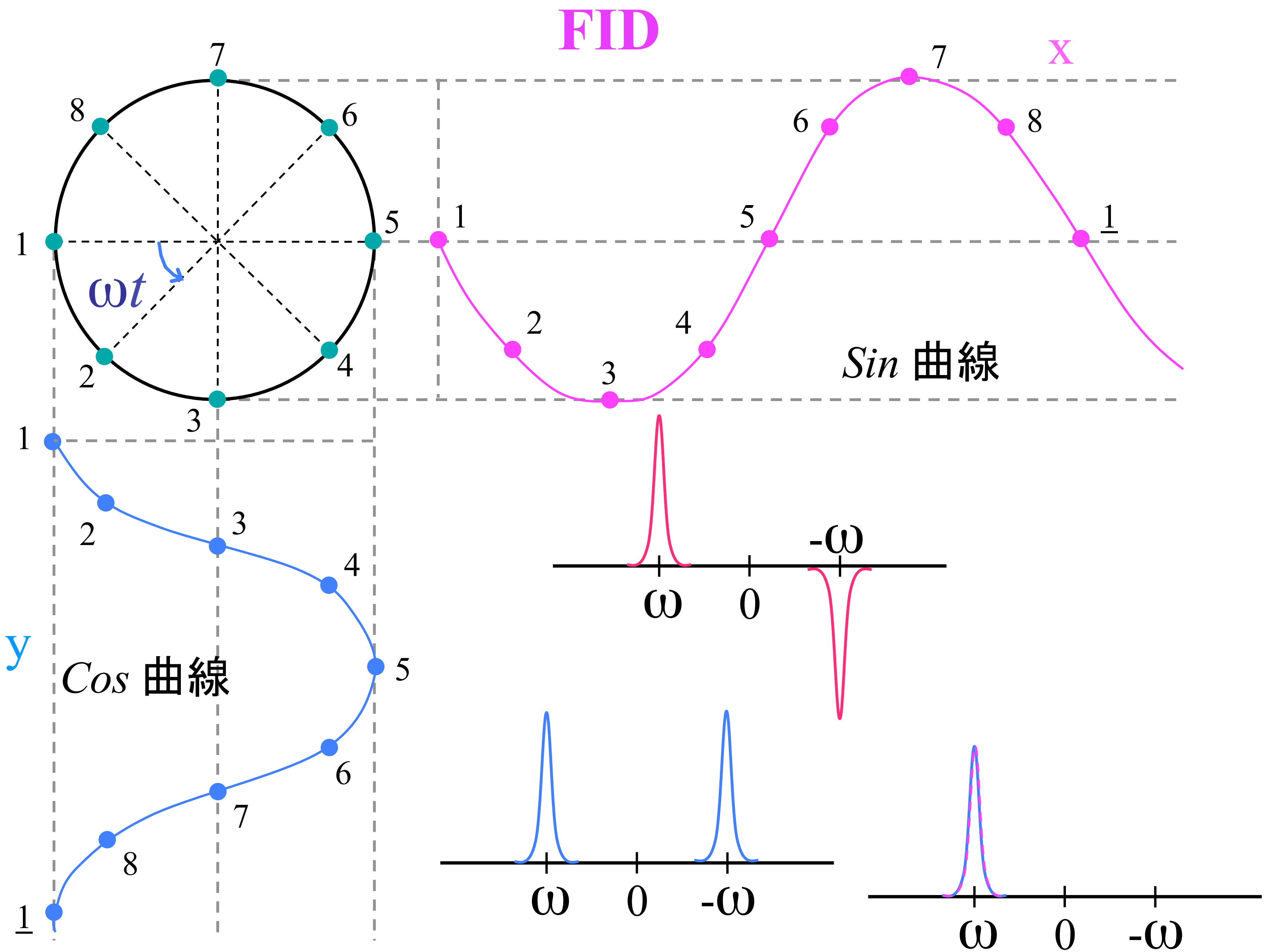
z
y
x
ω1τ = 90°



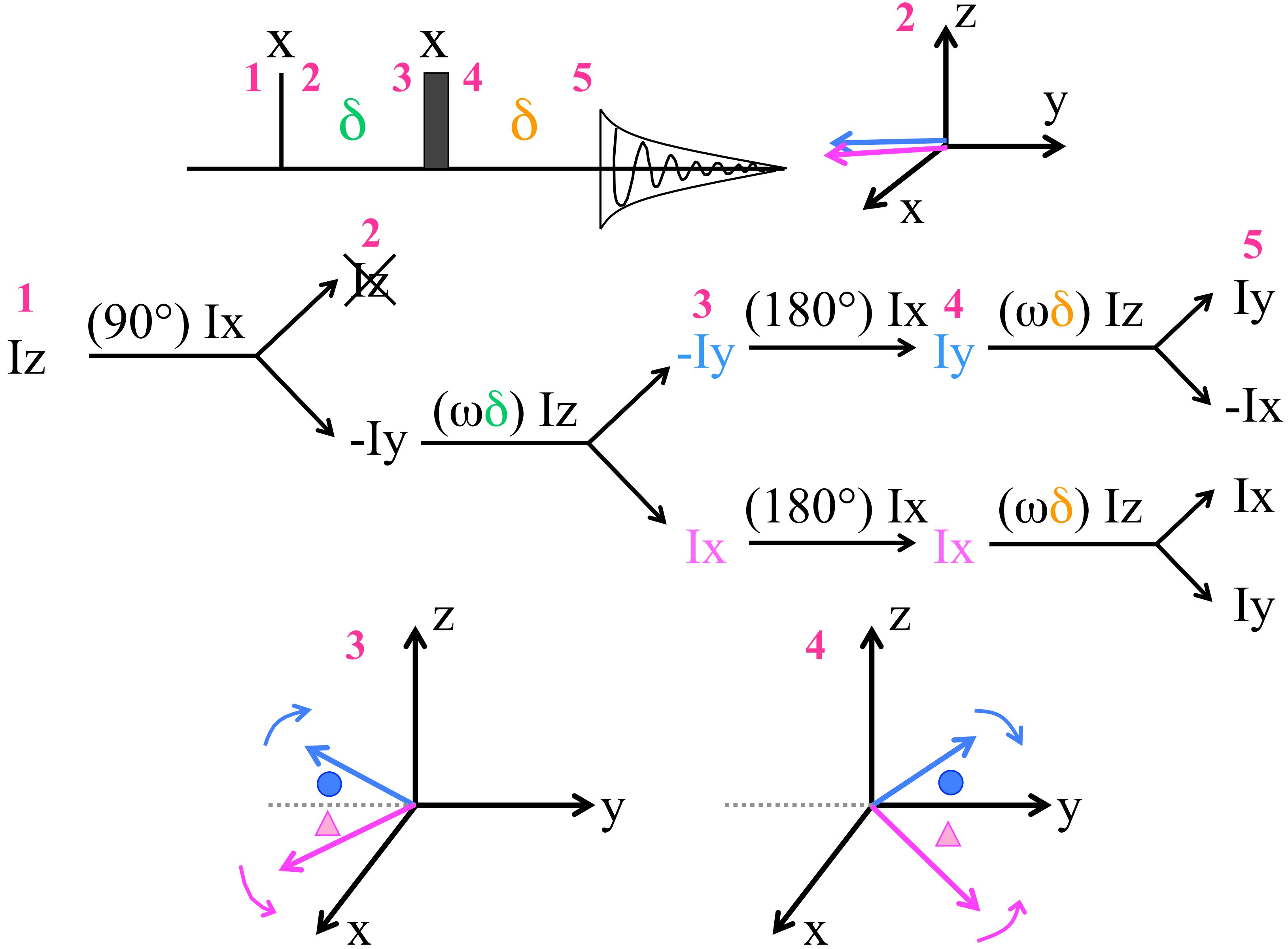
Iz
(90°) Ix
Iz
観測不可
-Iy
(ωt) Iz
-Iy
Ix



-Iy cos (ωt)
ωt
+Ix sin (ωt)


FID
x
y
ωt
1
2
3
4
5
6
7
8
Sin 曲線
Cos 曲線
ω
0
-ω

スピンエコー（1スピン系）



$$+I_y\{\cos(\omega\delta)\cos(\omega\delta)\}$$

$$-I_x\{\cos(\omega\delta)\sin(\omega\delta)\}$$

$$+I_x\{\sin(\omega\delta)\cos(\omega\delta)\}$$

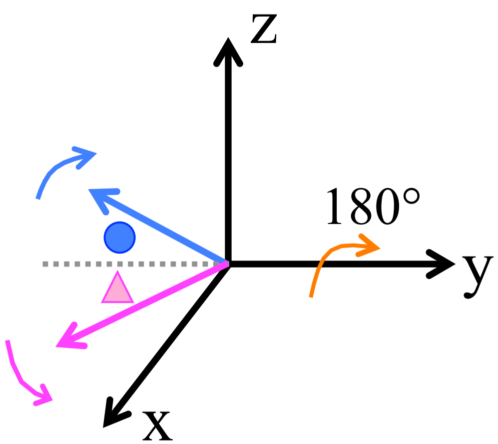
$$+I_y\{\sin(\omega\delta)\sin(\omega\delta)\}$$

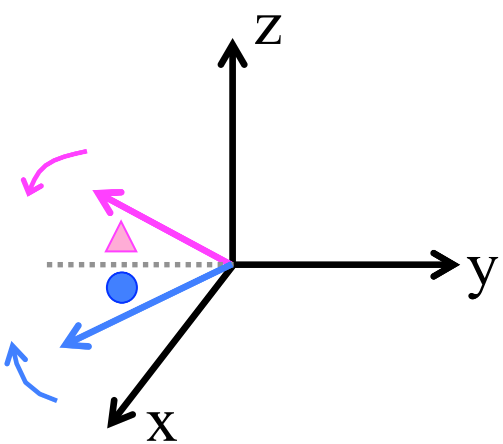
キャンセル

$$= I_y$$

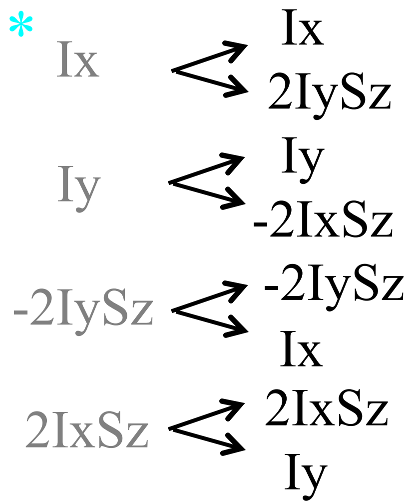
$$CC + SS = 1$$

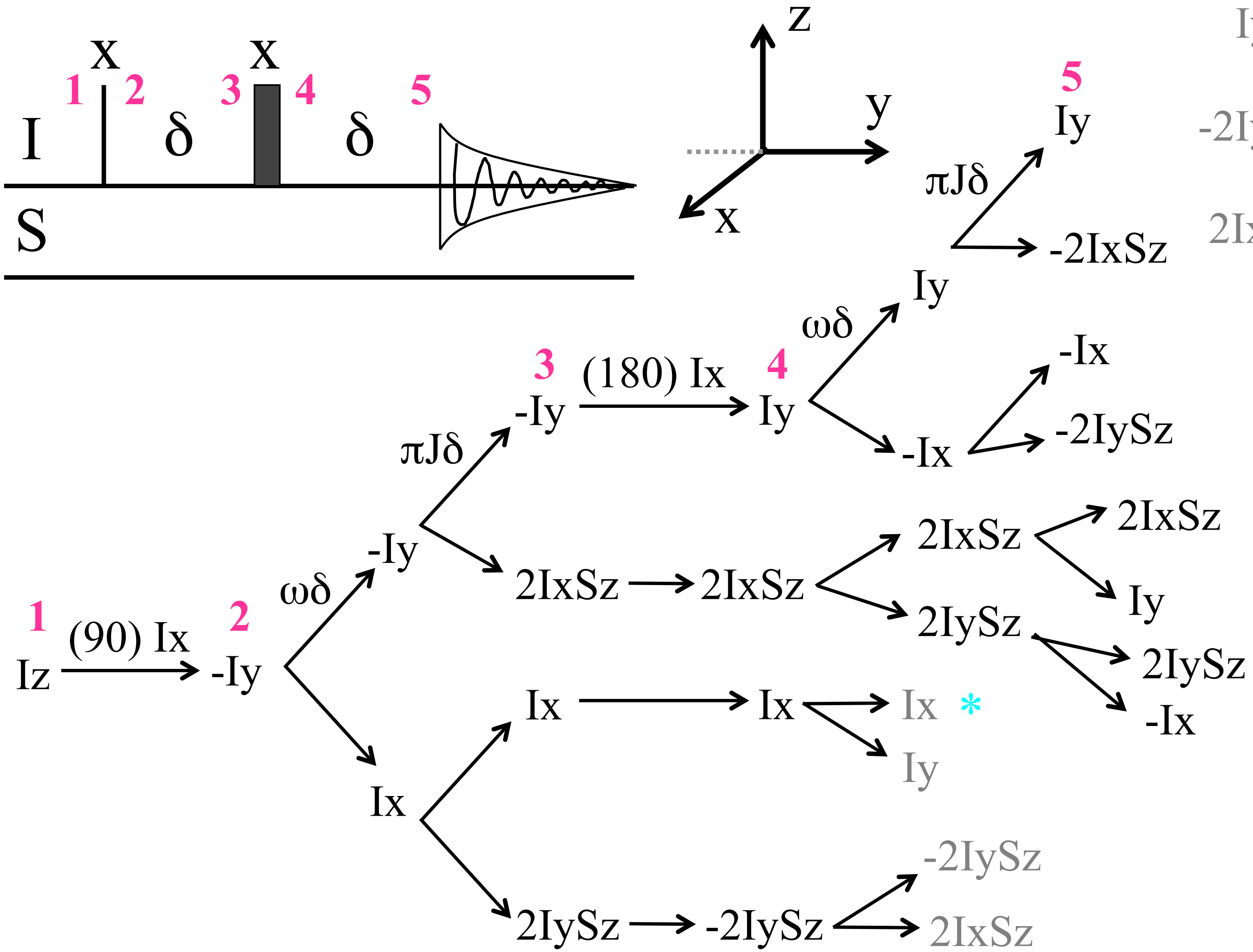
もし、π pulse を x 位相ではなく y 位相から打てば？

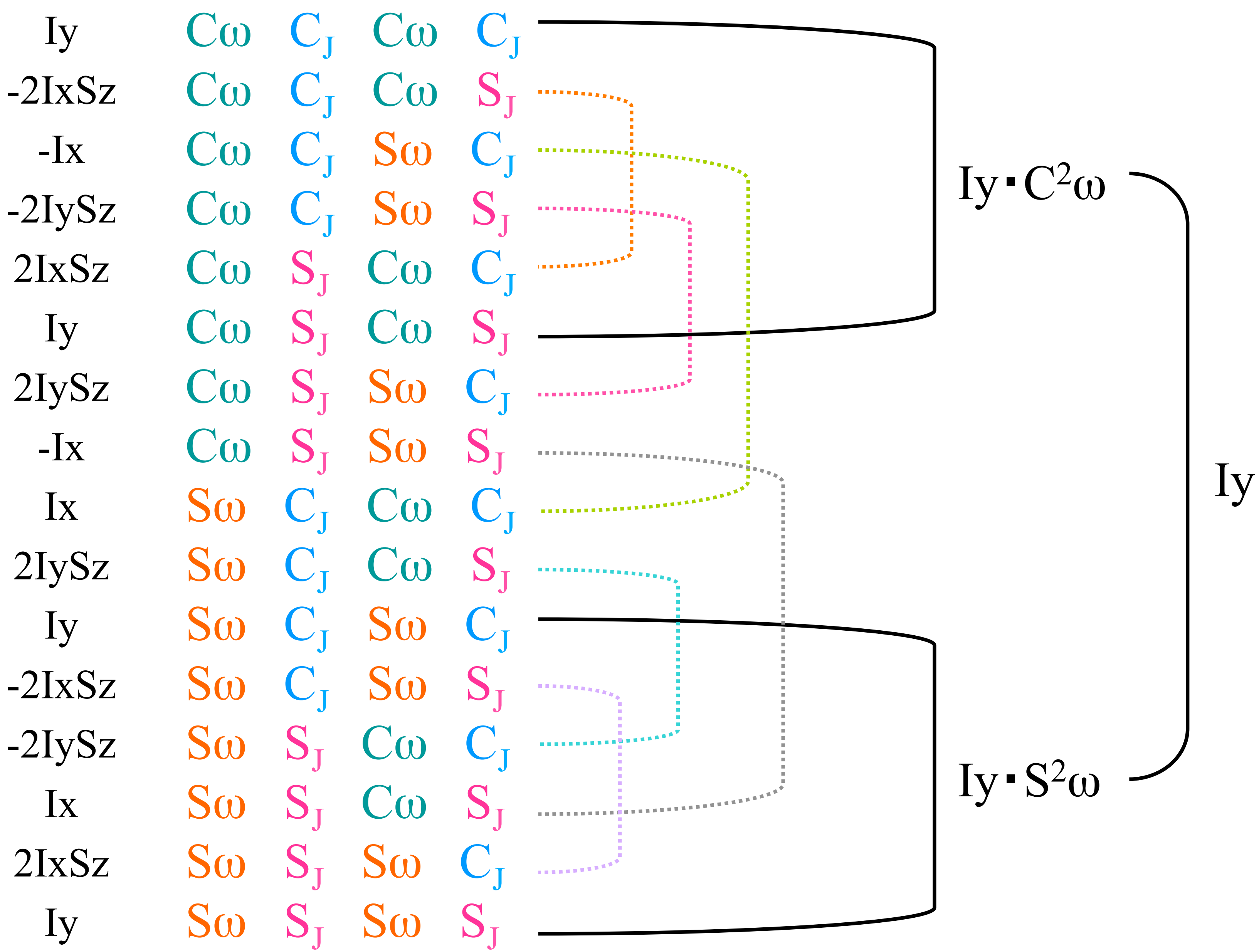




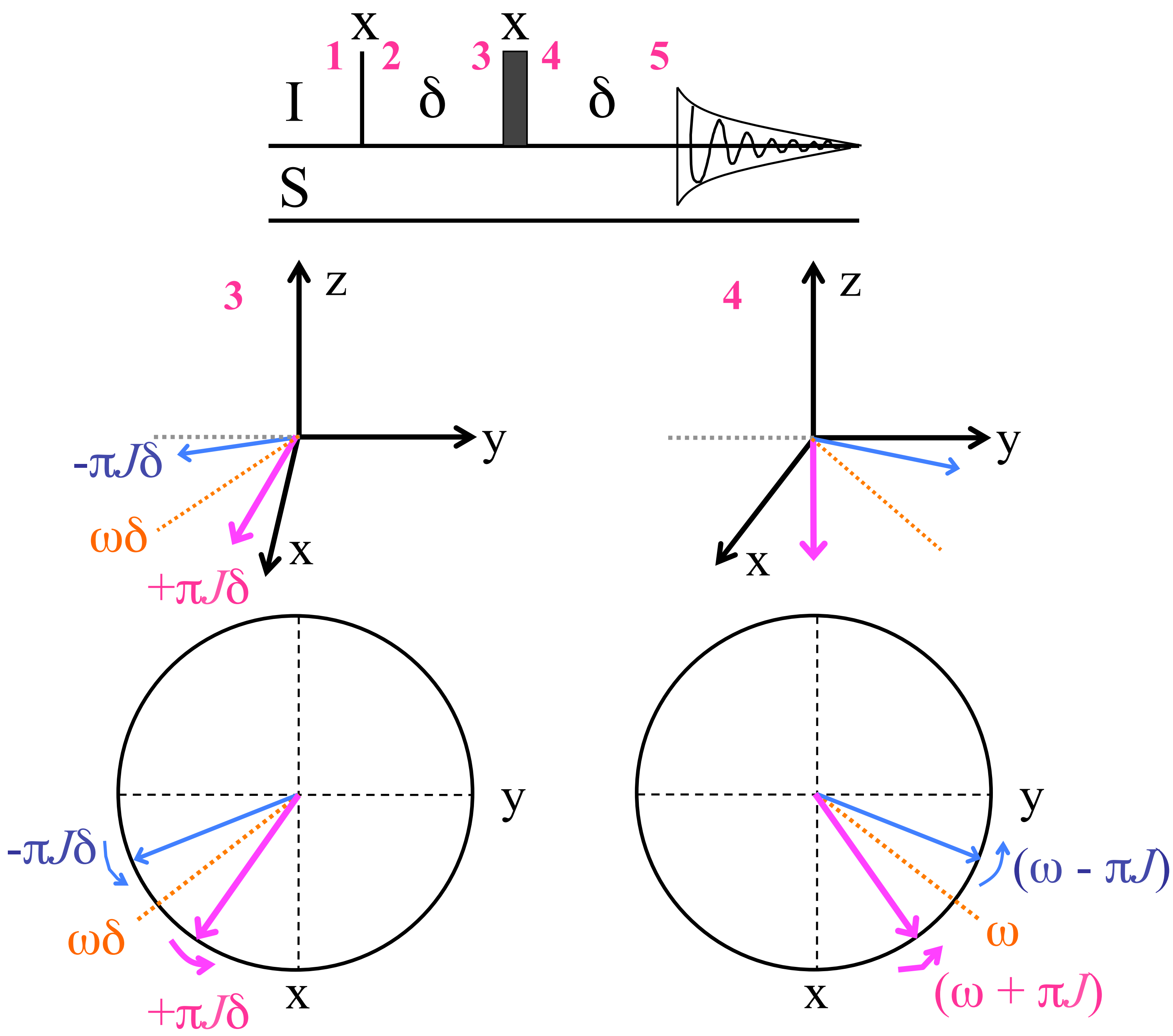
スピンエコー（2スピン系）



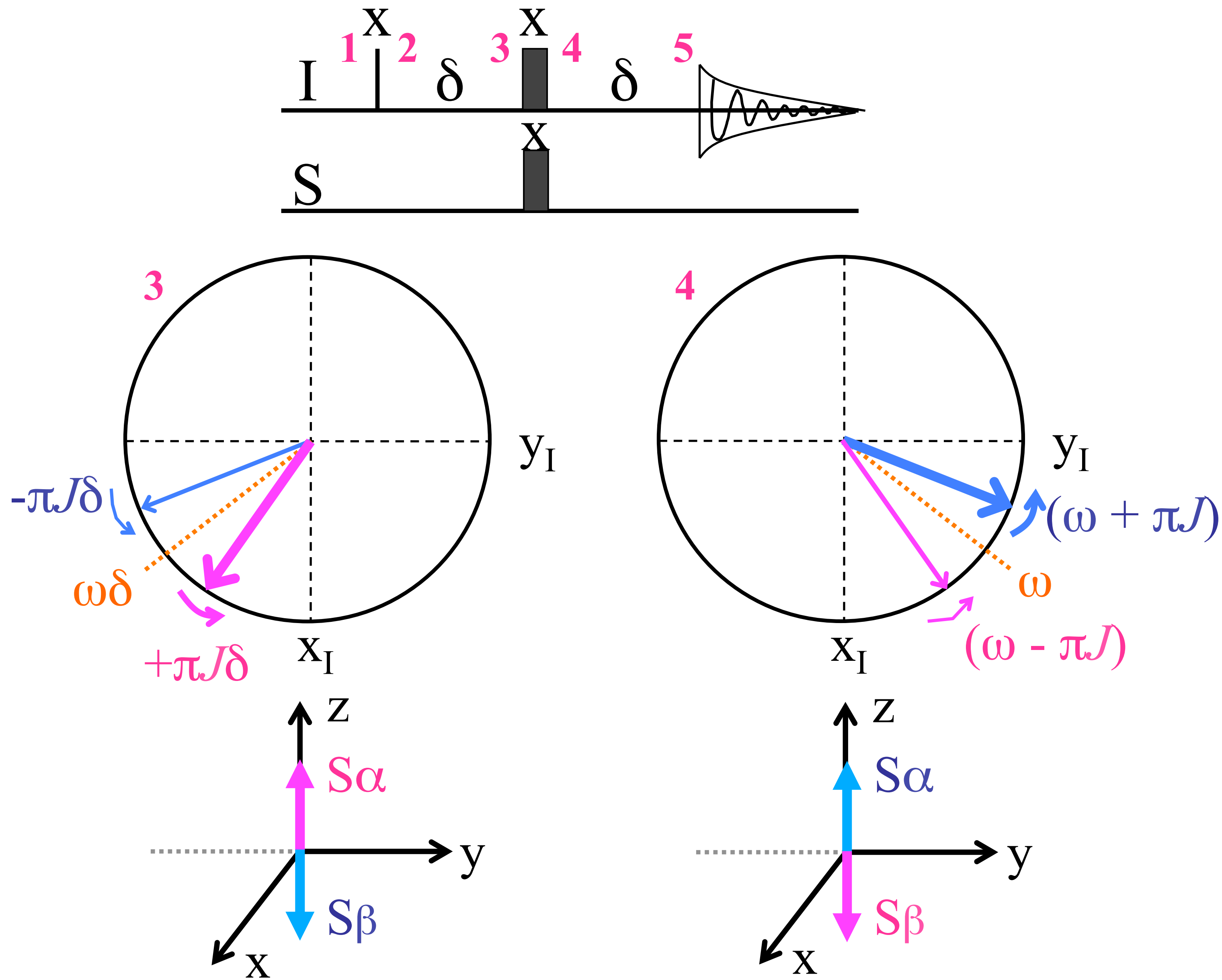


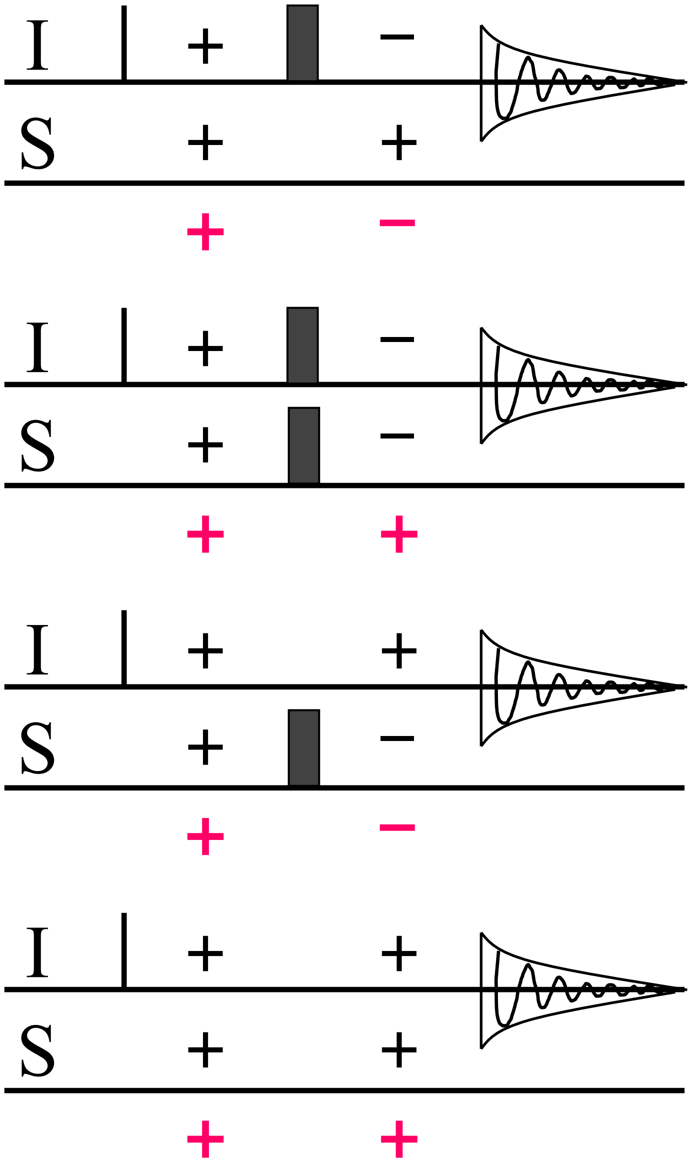


Iy Cω C_J Cω C_J
-2IxSz Cω C_J Cω S_J
-Ix Cω C_J Sω C_J
-2IySz Cω C_J Sω S_J
2IxSz Cω S_J Cω C_J
Iy Cω S_J Cω S_J
2IySz Cω S_J Sω C_J
-Ix Cω S_J Sω S_J
Ix Sω C_J Cω C_J
2IySz Sω C_J Cω S_J
Iy Sω C_J Sω C_J
-2IxSz Sω C_J Sω S_J
-2IySz Sω S_J Cω C_J
Ix Sω S_J Cω S_J
2IxSz Sω S_J Sω C_J
Iy Sω S_J Sω S_J
Iy▪C^2ω
Iy▪S^2ω
Iy


x
x
1
2
3
4
5
I
δ
δ
S
3
z
y
-πJδ
ωδ
x
+πJδ
4
z
y
x
y
-πJδ
ωδ
+πJδ
x
y
(ω - πJ)
ω
x
(ω + πJ)

S 側にも π パルスを打つと？





ω Iz I の化学シフト δ	2π*J* IzSz I-S の *J* カップリング
—	—
—	○
○	—
○	○

$$\sigma(0) \xrightarrow{\mathcal{H}} \sigma(t)$$

$$\sigma(t) = exp(-i\,\mathcal{H}t)\,\sigma(0)\,exp(i\,\mathcal{H}t)$$

$$\left(\begin{aligned} d\sigma/dt &= -i\,[\mathcal{H}, \sigma] \\ &= -i\,(\mathcal{H}\sigma - \sigma\mathcal{H}) \end{aligned} \right)$$

$$exp(-i\,\mathcal{H}t) \quad \begin{cases} exp(-i\,\omega\,Iz\,t) = U\omega \\ exp(-i\,2\pi J\,IzSz\,t) = U_J \\ exp(-i\,\pi\,Ix) = U\pi \end{cases}$$

$$\sigma(t) = U_J\; U\omega\; U\pi\; U_J\; U\omega\; \sigma(0)\; U\omega^*\; U_J^*\, U\pi^*\, U\omega^*\, U_J^*$$

$$U\pi\, U\pi^* = \mathbf{1}$$

$$= U\pi\;\; U\pi^* \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\; U\pi\, U\pi^*$$

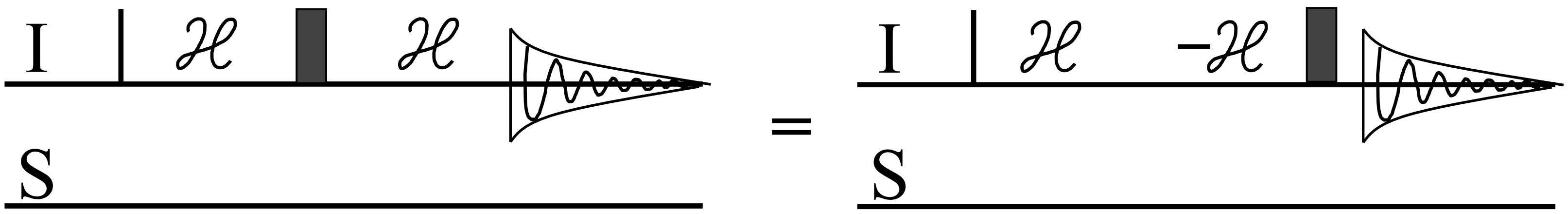
$$= U\pi\;\; U\pi^*\; U_J\; U\omega\;\; U\pi\;\; U_J\;\; U\omega\;\; \sigma(0)\;\; U\omega^*\; U_J^*\, U\pi^*\; U\omega^*\; U_J^*\, U\pi\;\; U\pi^*$$

$$U\pi^{*}\ U_J\ U\omega\ U\pi$$
$$= \underline{U\pi^{*}}\ exp\left\{-i(\omega Iz + 2\pi J\, IzSz)\ t\right\}\underline{U\pi}$$
$$= exp\left\{-i\ \underline{U\pi^{*}}(\omega Iz + 2\pi J\, IzSz)\ \underline{U\pi}\ t\right\}$$

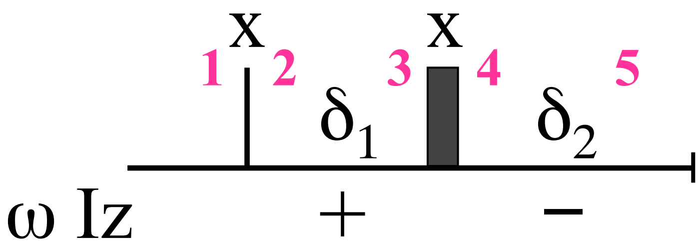
$\mathcal{H}$をπパルスで反転！

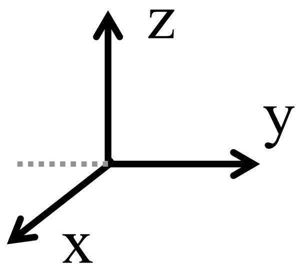
$$= exp\left\{+i\ (\omega Iz + 2\pi J\, IzSz)\ t\right\}$$
$$= U_J^{*}\ U\omega^{*}$$

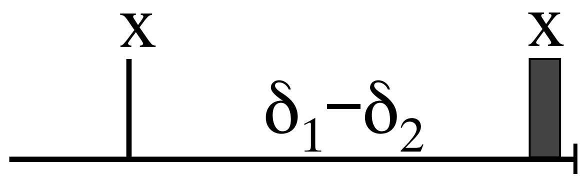
$$\sigma(t) = U\pi\ U_J^{*}\ U\omega^{*}\ U_J\ U\omega\ \sigma(0)\ U\omega^{*}\ U_J^{*}\ U\omega\ U_J\ U\pi^{*}$$
$$= U\pi\ \sigma(0)\ U\pi^{*}$$

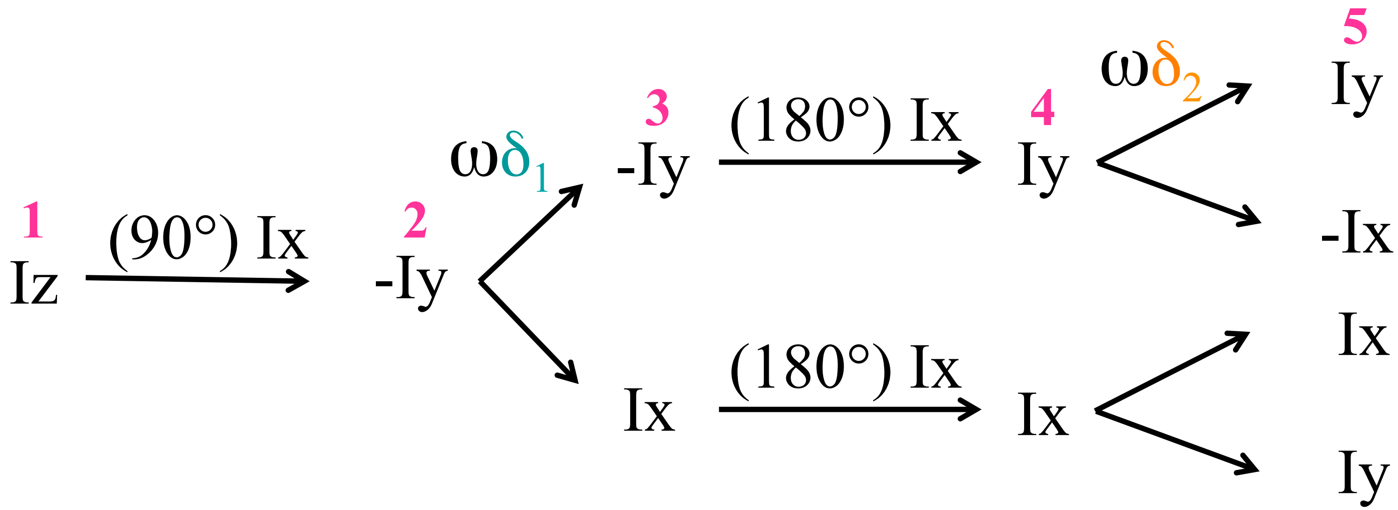


異なる時間バランスのスピンエコー





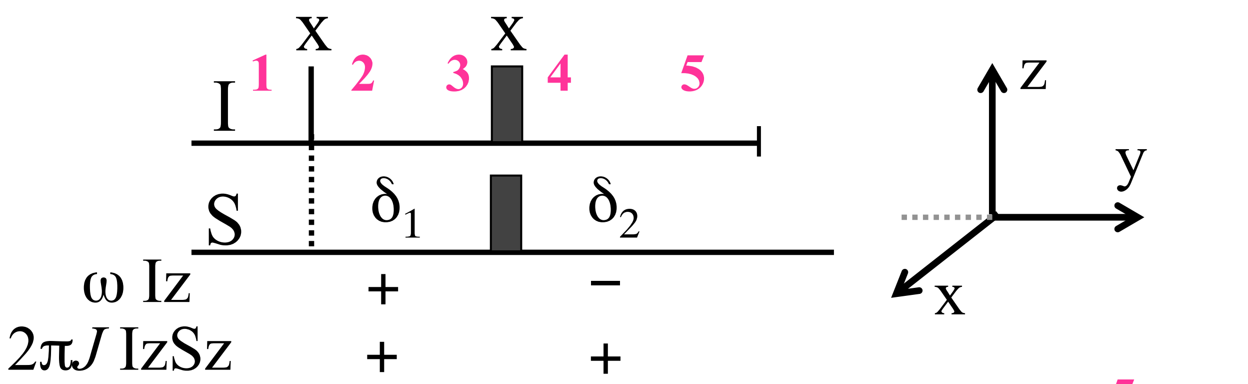


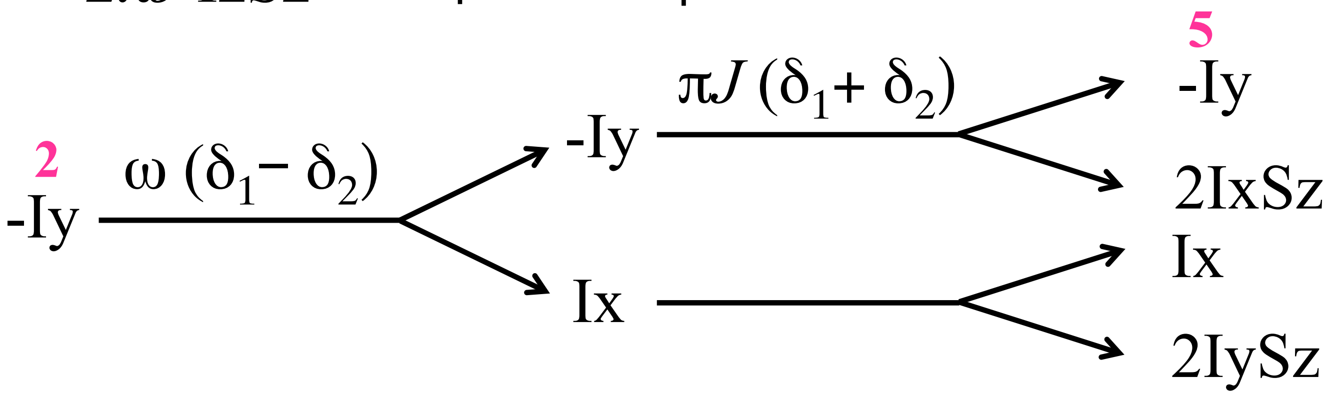


$$\mathrm{Ix}\left\{\sin(\omega\delta_1)\cos(\omega\delta_2)-\cos(\omega\delta_1)\sin(\omega\delta_2)\right\}$$

$$+\,\mathrm{Iy}\left\{\cos(\omega\delta_1)\cos(\omega\delta_2)+\sin(\omega\delta_1)\sin(\omega\delta_2)\right\}$$

$$=\mathrm{Ix}\ \sin\left\{\omega(\delta_1-\delta_2)\right\}+\mathrm{Iy}\cos\left\{\omega(\delta_1-\delta_2)\right\}$$





もし、$\delta_1 = 1/2J + t_1/2$, $\delta_2 = 1/2J - t_1/2$ のとき

$$\begin{cases} \cos\{\omega(\delta_1 - \delta_2)\} = \cos(\omega t_1) \\ \sin\{\omega(\delta_1 - \delta_2)\} = \sin(\omega t_1) \\ \cos\{\pi J(\delta_1 + \delta_2)\} = -1 \\ \sin\{\pi J(\delta_1 + \delta_2)\} = 0 \end{cases}$$

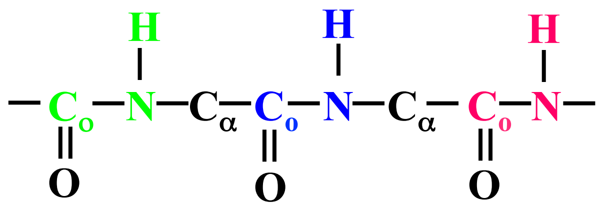
$\longrightarrow$ $Iy \cos(\omega t_1) - Ix \sin(\omega t_1)$

constant-time 法

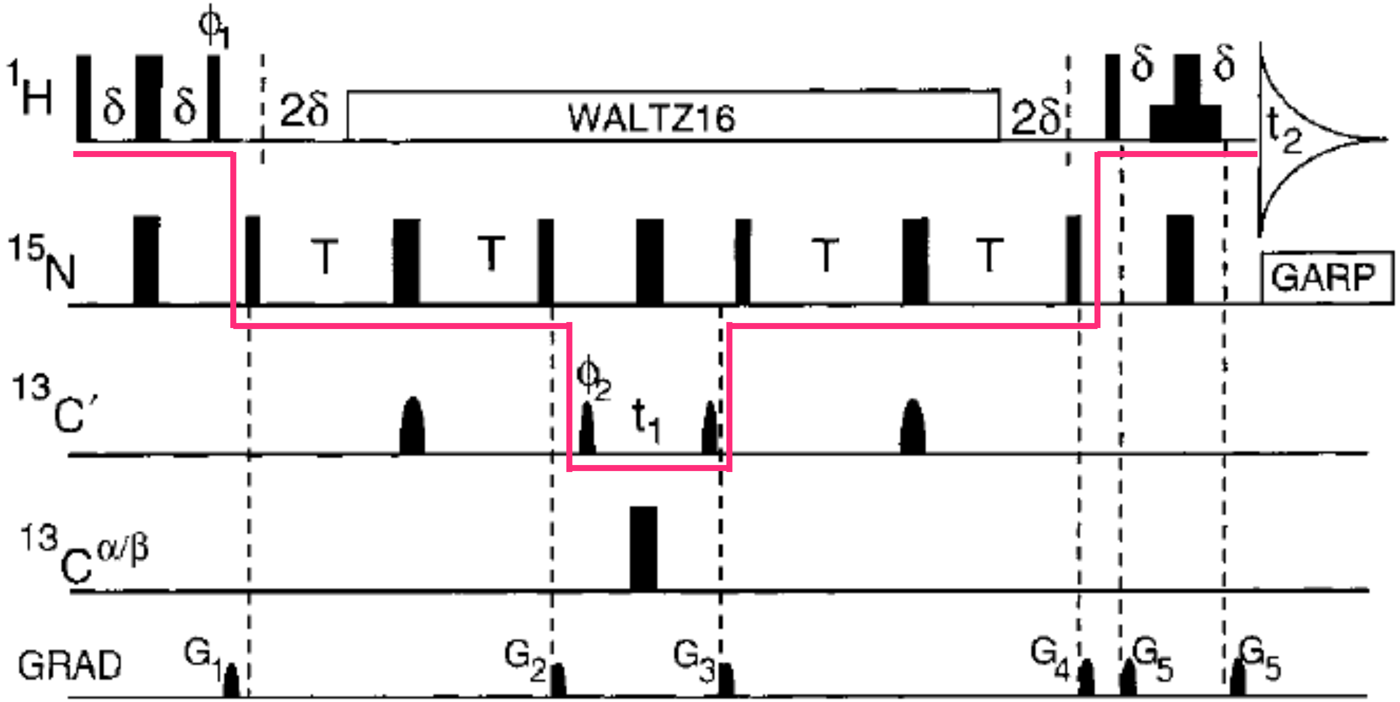
スピン状態選択的な回転

ベクトルモデルで磁化移動を表す

連鎖帰属のための
３、4次元の実験



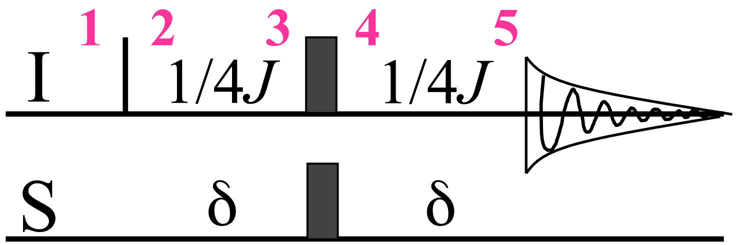
3D-HNCO

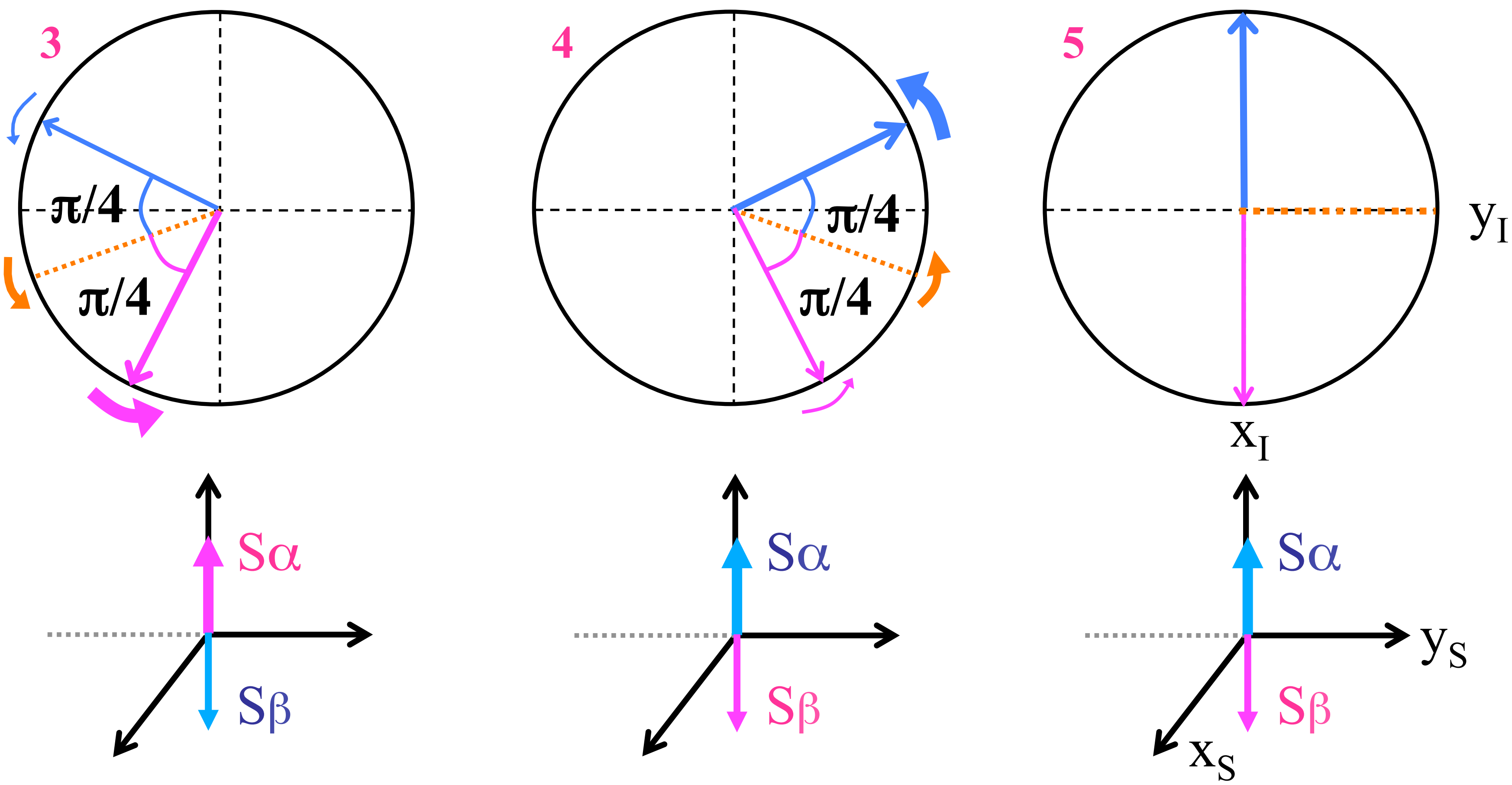


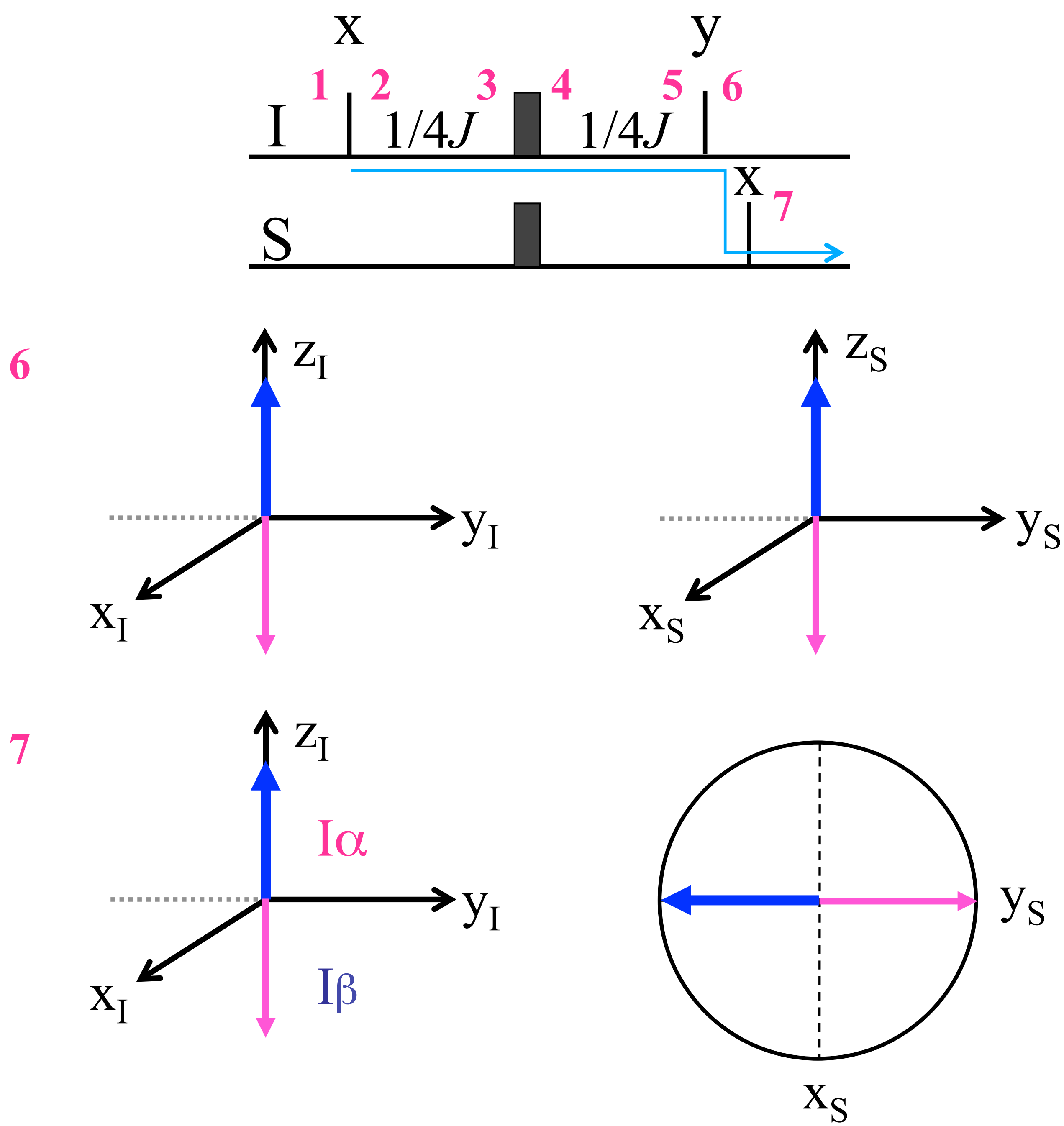
INEPT

$$(\omega - \pi J)\,\delta = \omega\delta - \pi/4$$

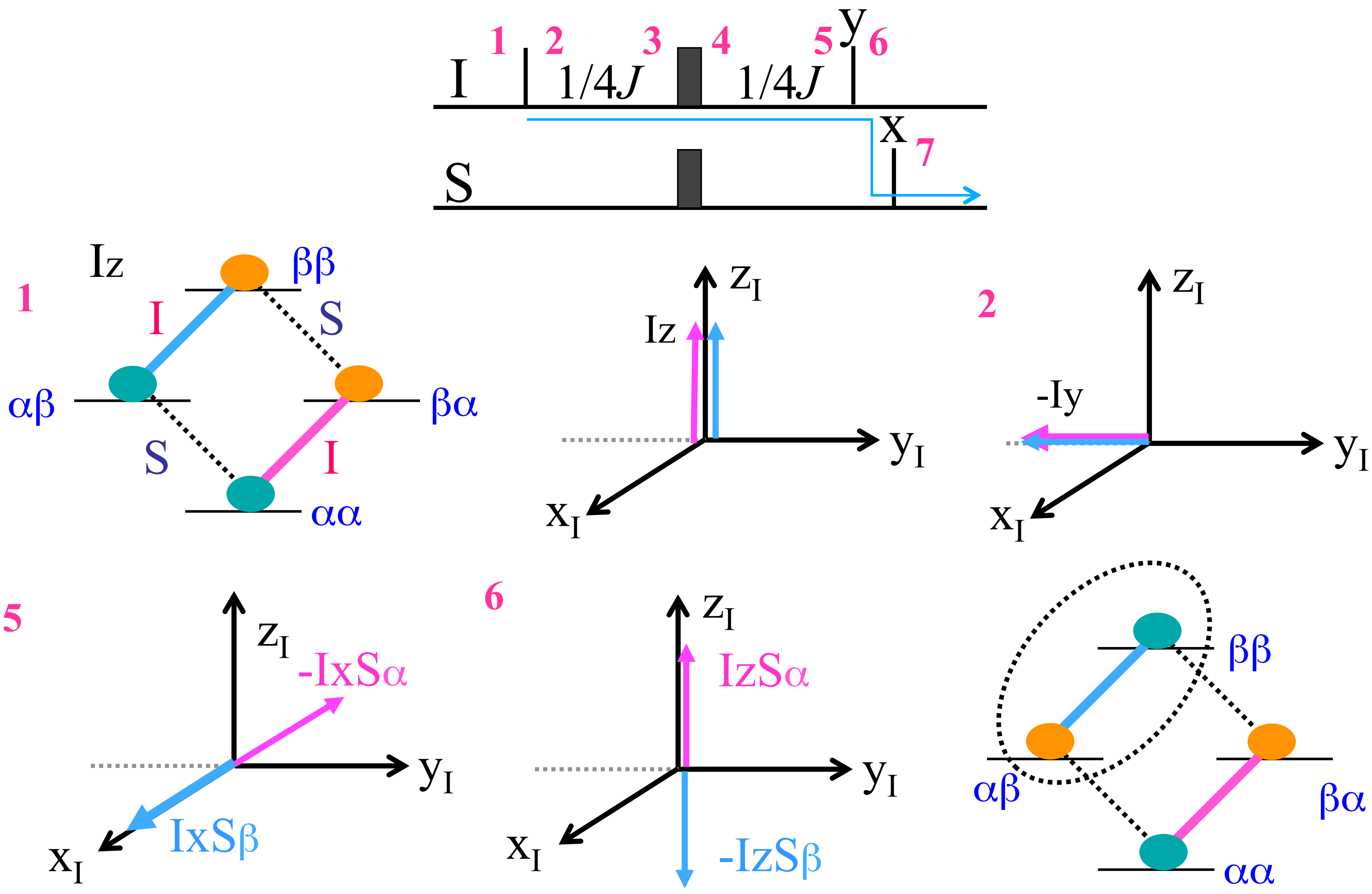
$$(\omega + \pi J)\,\delta = \omega\delta + \pi/4$$







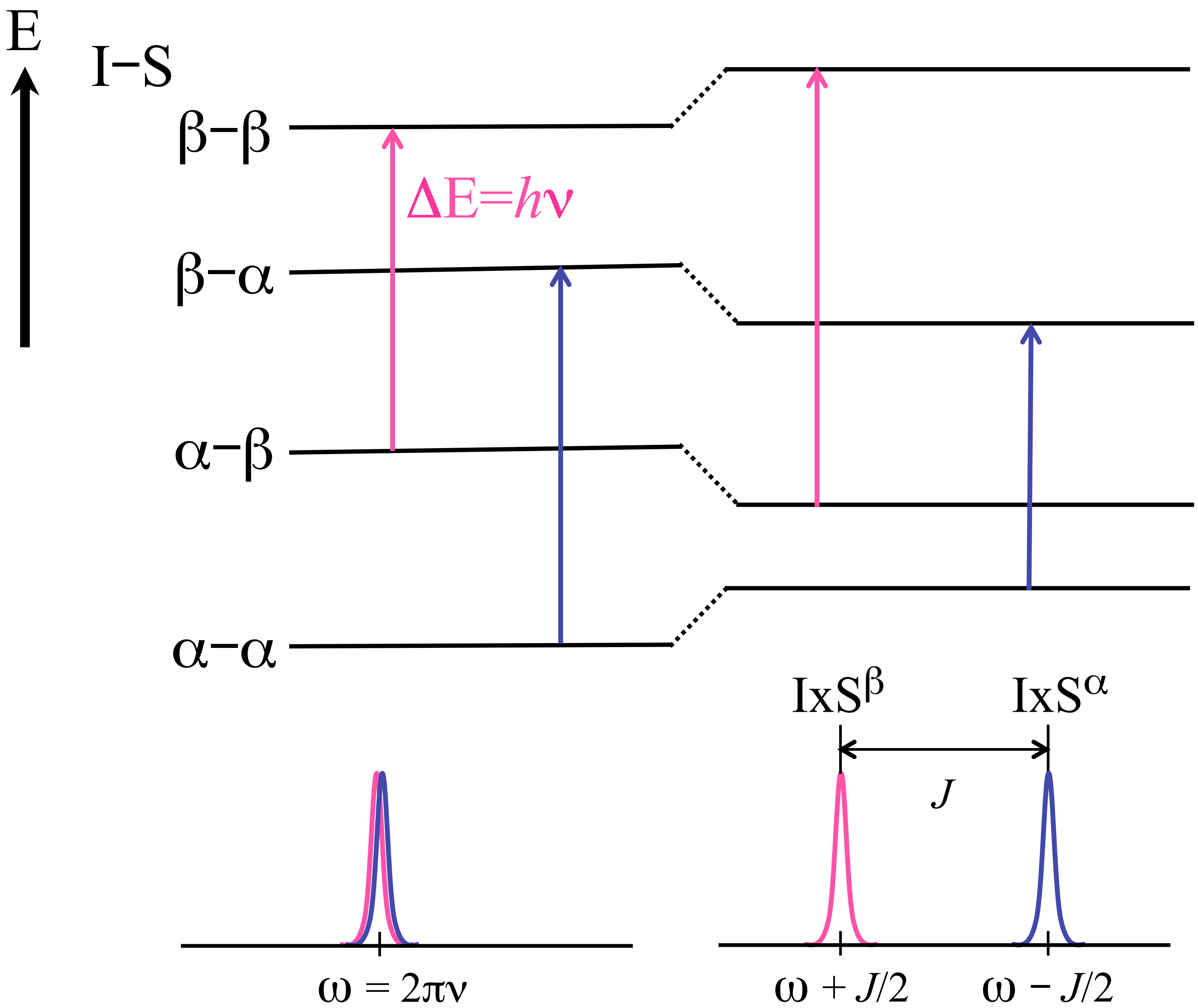
x
y
1 2 3 4 5 6
I
1/4J
1/4J
x
7
S
6
z_I
y_I
x_I
z_S
y_S
x_S
7
z_I
Iα
y_I
Iβ
x_I
y_S
x_S



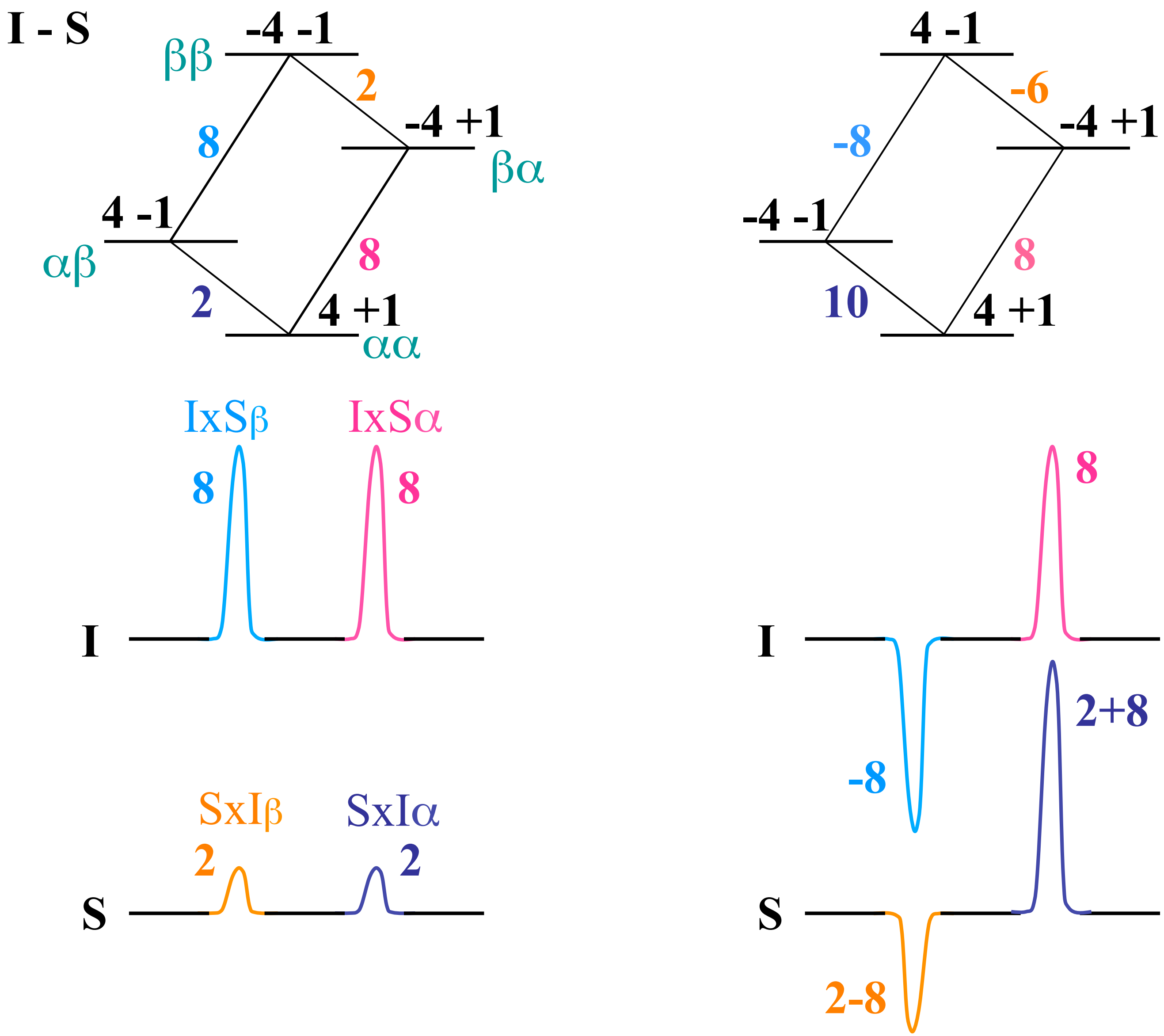
$$IxS\beta - IxS\alpha = Ix\,(S\beta - S\alpha)$$
$$= -2IxSz$$

2IzSz

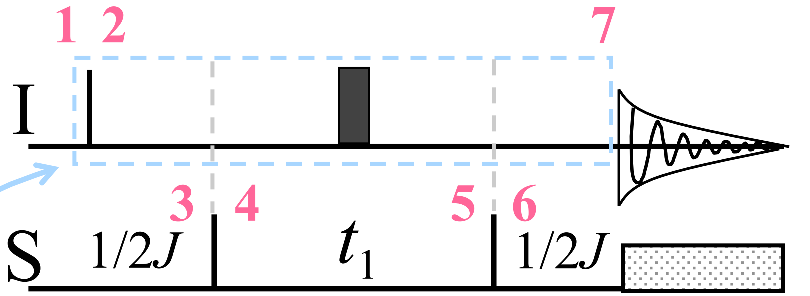
$I_{\pm}S\beta$ のみ反転


E
I−S
β−β
ΔE=hν
β−α
α−β
α−α
IxS^β
IxS^α
J
ω = 2πν
ω + J/2
ω − J/2

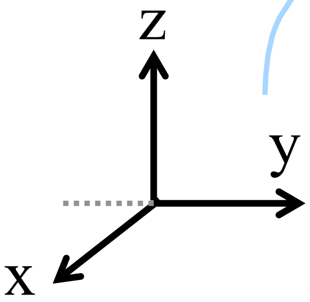
分極移動 SPT = spin polarization transfer



HMQC



I はエコー ⇒ 化学シフトはなし！



1 Iz —(90°) Ix→ 2 -Iy —πJt→ 3 ~~-Iy~~ 位相回しでも消去

→ 2IxSz —(90°) Sx→ 4 -2IxSy —($\omega_S t_1$) Sz→ ……

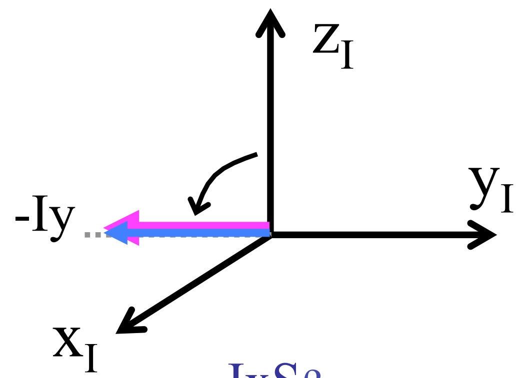
J カップリングなし

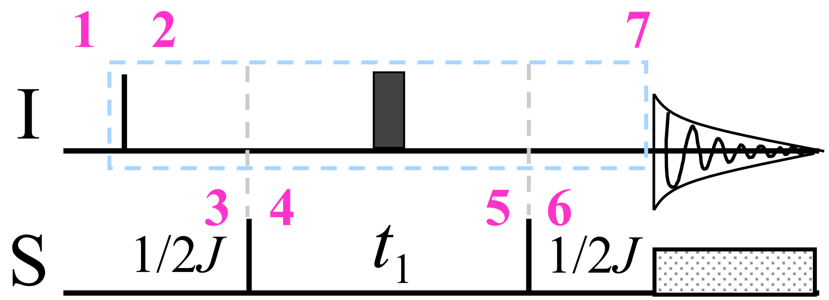
…… → 5 -2 IxSy —(90°) Sx→ 6 -2 IxSz —πJt→ 7 ~~-2 IxSz~~ デカップリングで消去

→ -Iy

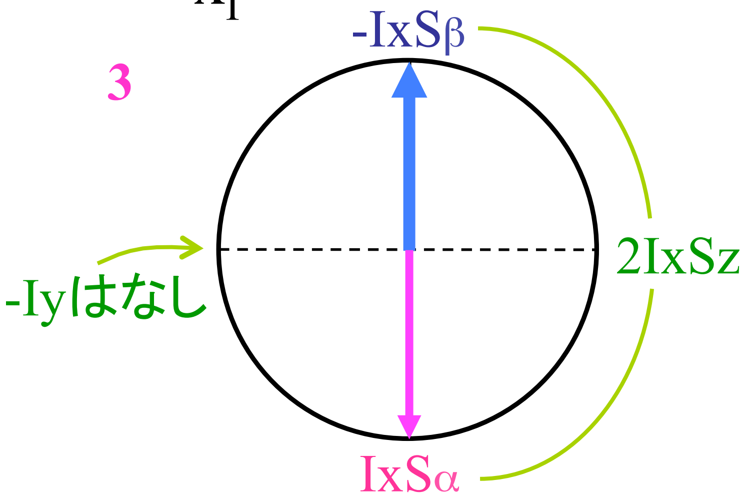
…… → +2 IxSx → ~~+2 IxSx~~ 位相回しでも消去 → ~~2 IxSx~~ 観測不可

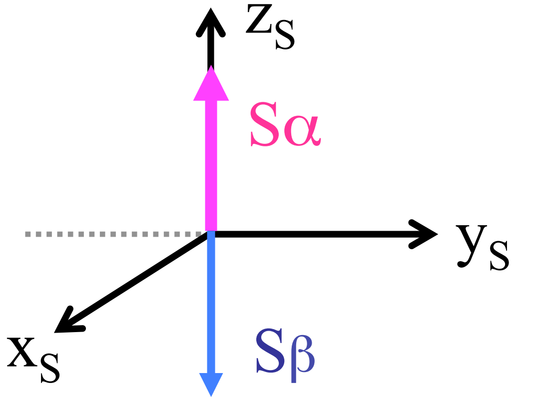
2



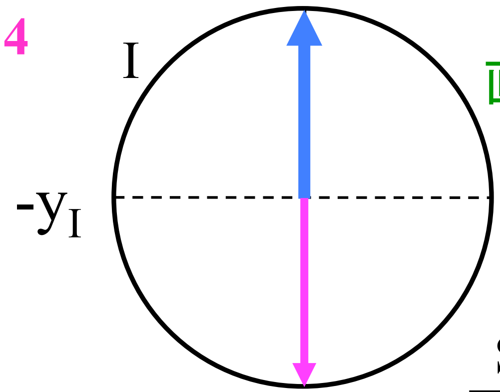


3



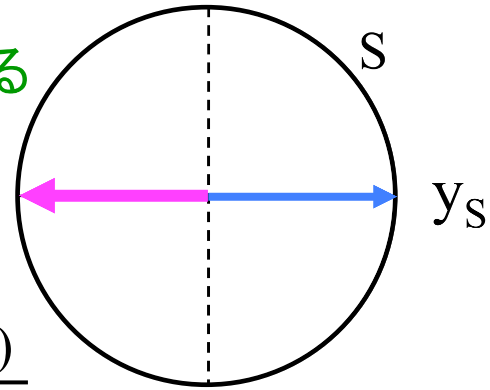


4

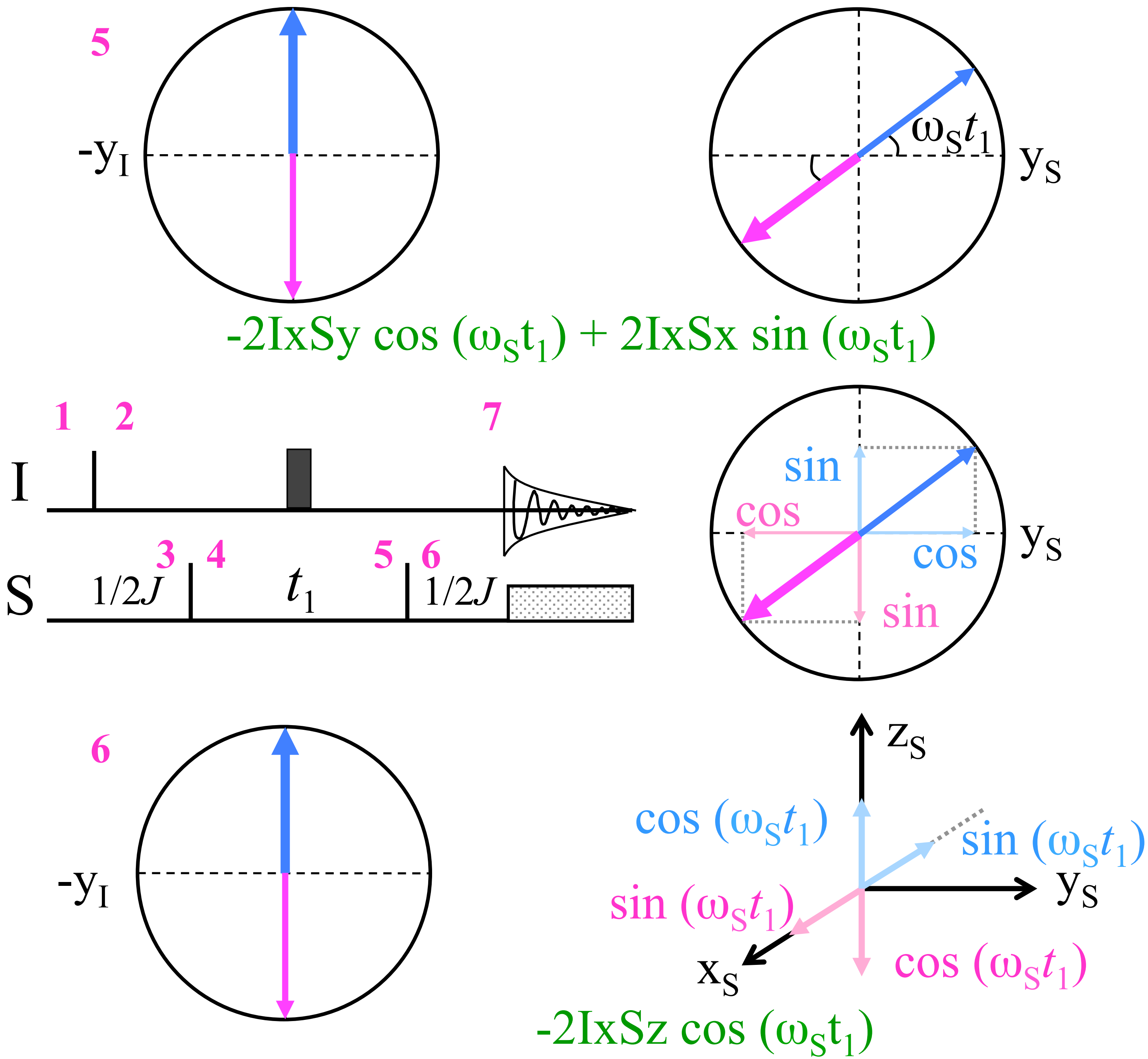


直線のまま回転する

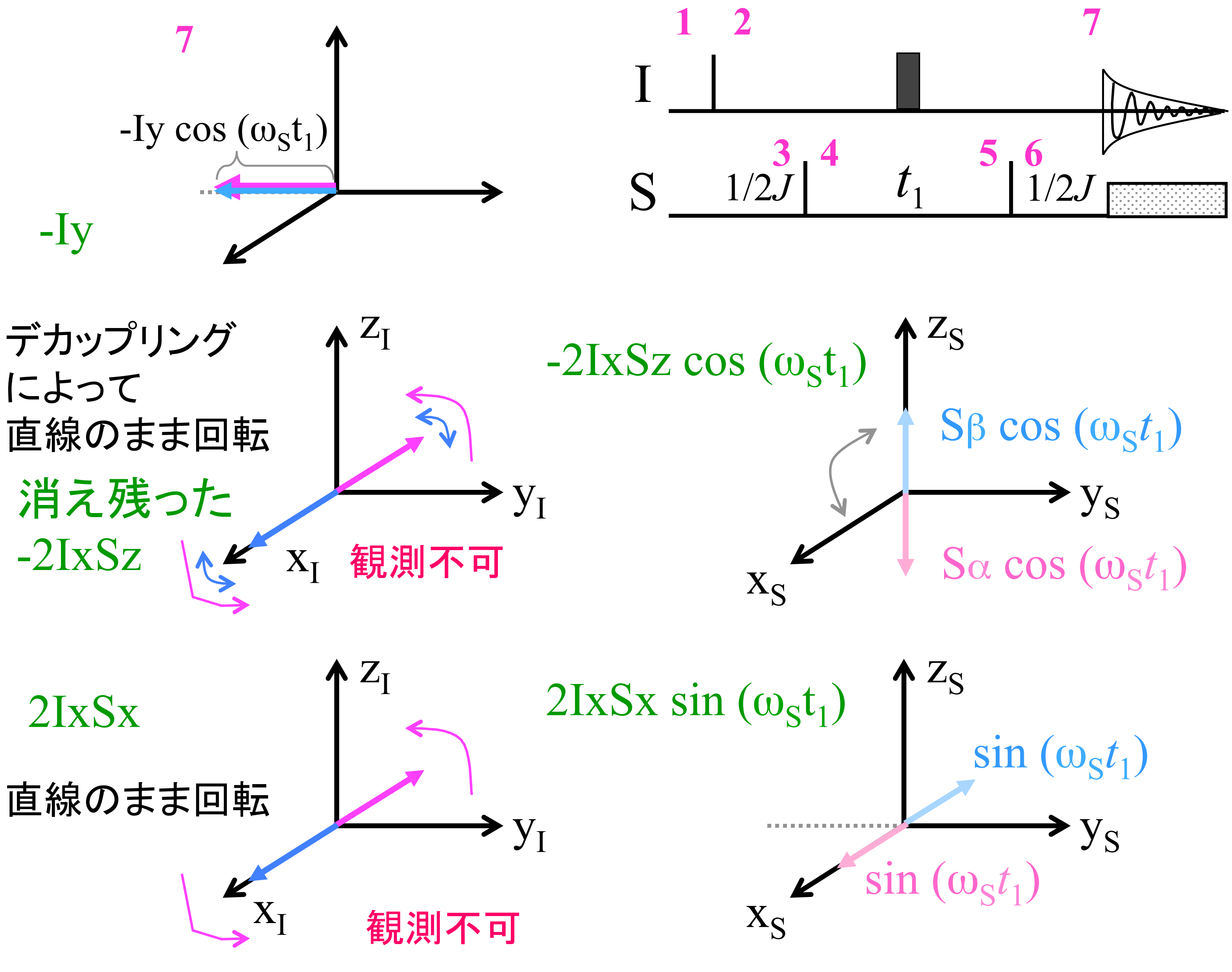
-2IxSy



$$Ix = 1/2\ (I^+ + I^-)$$
$$Sy = 1/2i\ (S^+ - S^-)$$
$$2IxSy = 1/2i\ (I^+S^+ - I^-S^- - I^+S^- + I^-S^+)$$



5
$-y_I$
$\omega_S t_1$
y_S
$-2I_xS_y \cos(\omega_S t_1) + 2I_xS_x \sin(\omega_S t_1)$
1
2
7
I
S
3
4
5
6
1/2J
t_1
1/2J
sin
cos
cos
sin
y_S
6
$-y_I$
z_S
$\cos(\omega_S t_1)$
$\sin(\omega_S t_1)$
y_S
$\sin(\omega_S t_1)$
x_S
$\cos(\omega_S t_1)$
$-2I_xS_z \cos(\omega_S t_1)$


7
-Iy cos ($\omega_S t_1$)
-Iy
1 2 7
I
S
3 4 5 6
1/2J
t_1
1/2J
デカップリング
によって
直線のまま回転
消え残った
-2IxSz
z_I
y_I
x_I
観測不可
-2IxSz cos ($\omega_S t_1$)
z_S
Sβ cos ($\omega_S t_1$)
y_S
x_S
Sα cos ($\omega_S t_1$)
2IxSx
直線のまま回転
z_I
y_I
x_I
観測不可
2IxSx sin ($\omega_S t_1$)
z_S
sin ($\omega_S t_1$)
y_S
x_S
sin ($\omega_S t_1$)

$$-I_y \cos(\omega_S t_1) \xrightarrow{\omega_I t_2} \begin{cases} -I_y \cos(\omega_S t_1) \\ I_x \cos(\omega_S t_1) \end{cases}$$

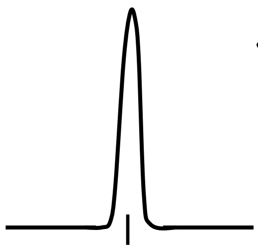
$$= \left\{ -I_y \cos(\omega_I t_2) + I_x \sin(\omega_I t_2) \right\} \cos(\omega_S t_1)$$

5→6 の $(90°)_S$ パルスを y から打つと‥‥

$$\left\{ -I_y \cos(\omega_I t_2) + I_x \sin(\omega_I t_2) \right\} \sin(\omega_S t_1)$$

お互いに 90 度ずれていて、それぞれに cos, sin がかかっている

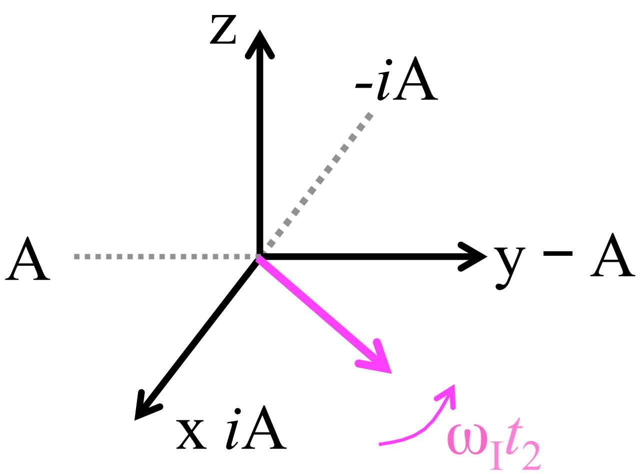
↓ FT



ω_I にピークが出る

FT 後の位相調整

$$\underbrace{-I_y}_{A} \cos(\omega_I t_2) + \underbrace{I_x}_{= iA} \sin(\omega_I t_2)$$



i : 90° ずれる

$$= A\cos(\omega_I t_2) + iA\sin(\omega_I t_2)$$

$$= A\{\cos(\omega_I t_2) + i\sin(\omega_I t_2)\}$$

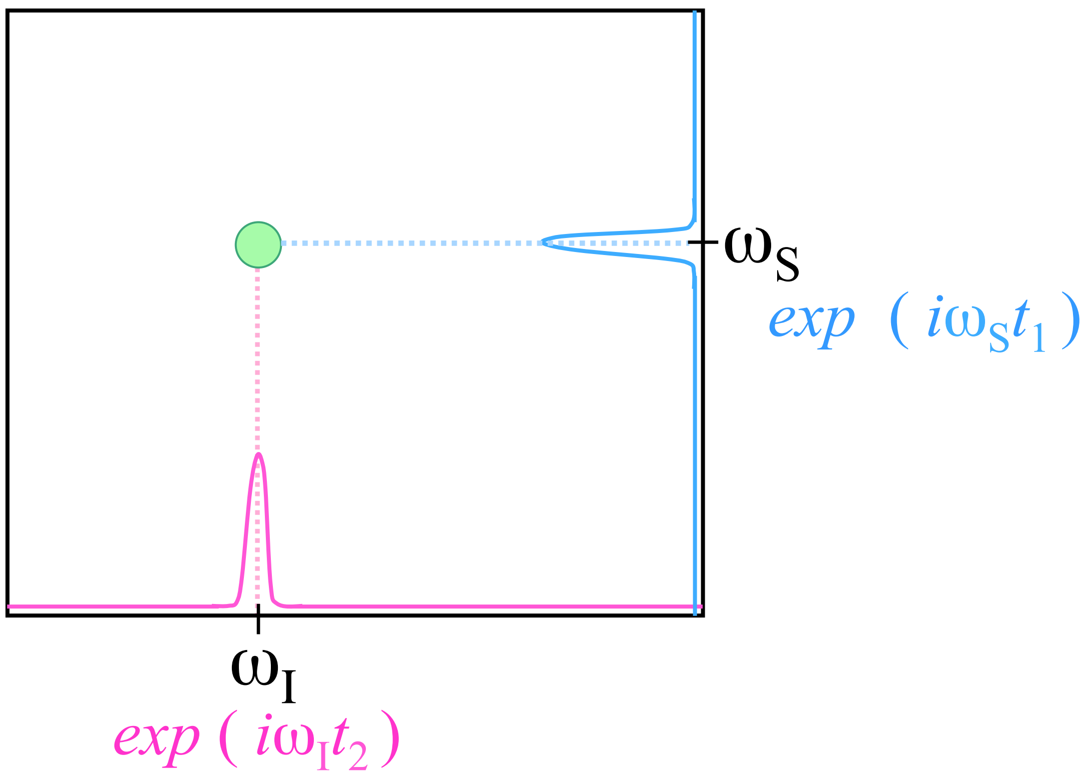
$$= A\ exp(i\omega_I t_2)$$

t_2 での回転

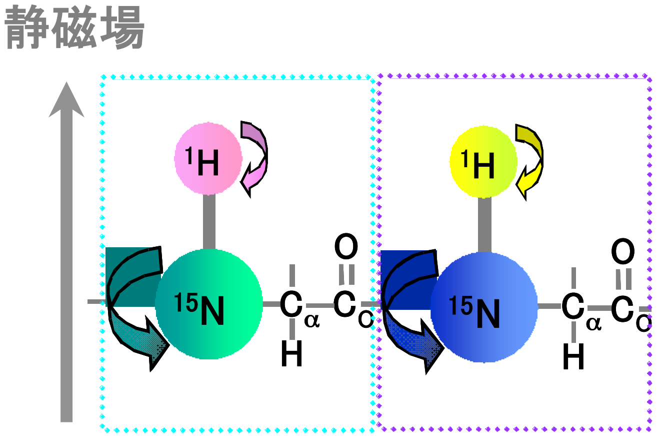
$$A \cdot exp\,(i\omega_I t_2)\cos(\omega_S t_1)$$
$$A \cdot exp\,(i\omega_I t_2)\sin(\omega_S t_1) \times i$$

$$A \cdot exp\,(i\,\omega_I t_2)\left\{\cos(\omega_S t_1) + i\sin(\omega_S t_1)\right\}$$
$$= A \cdot exp\,(i\,\omega_I t_2)\ exp\,(i\,\omega_S t_1)$$

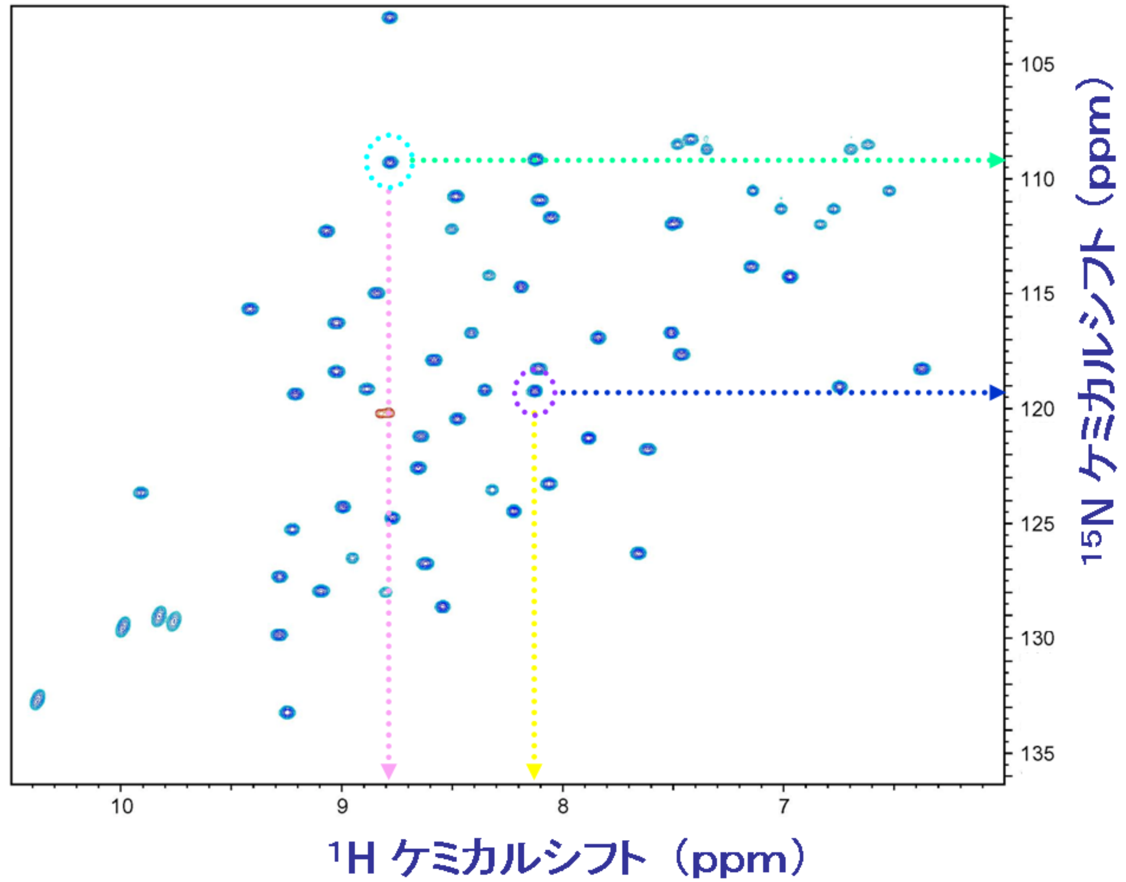
t_1 での回転



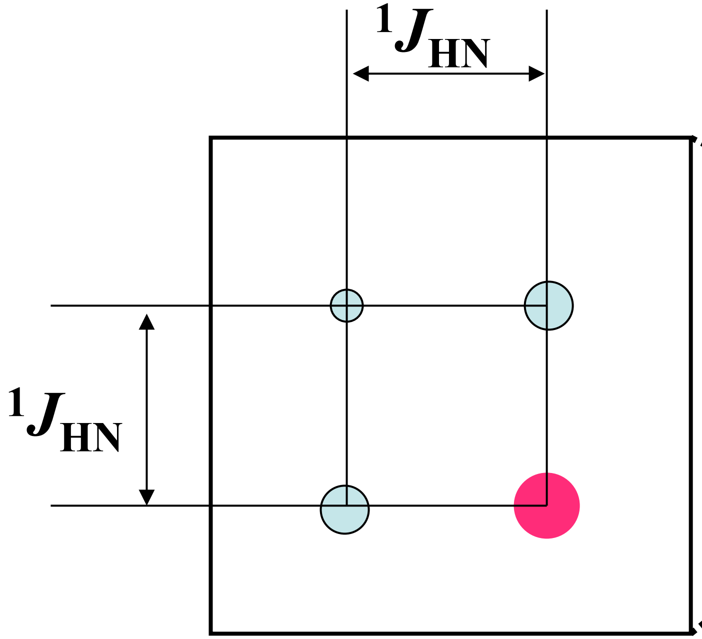
$^{1}H-^{15}N$ HSQC　相関スペクトル



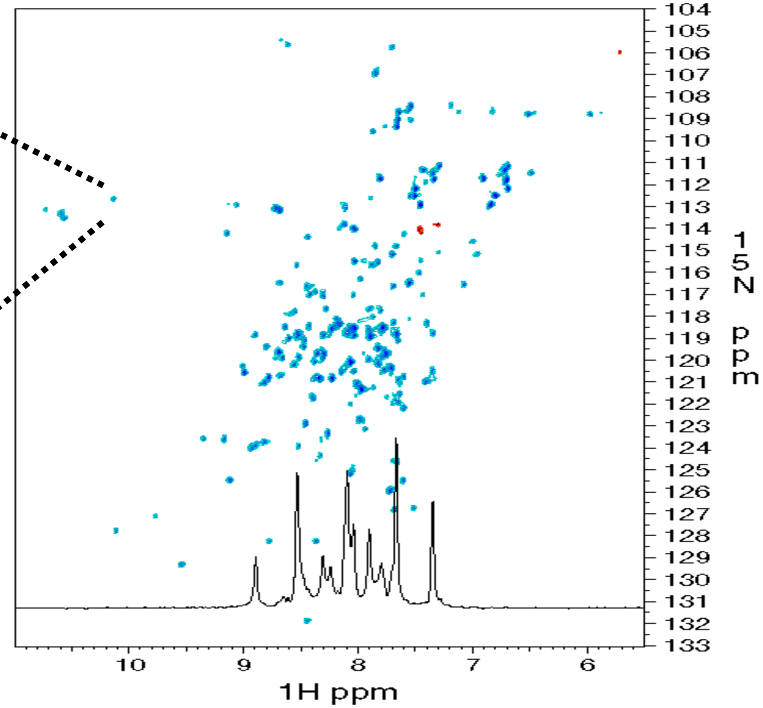
ChBD$_{ChiC}$　52アミノ酸残基



TROSY パルス系列による高分子量への挑戦



二次元 ^1H–^{15}N 相関スペクトル

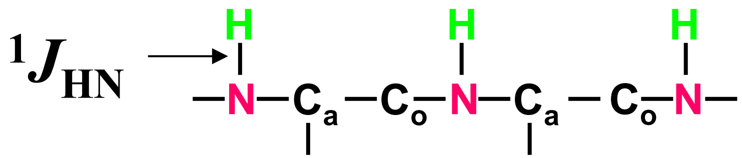


^{15}N 化学シフト値 (ppm)

^1H 化学シフト値 (ppm)

800 kDa 高分子量でも観測可
1 GHz NMR が理想的

アミド基にのみ適用可



TROSY パルス系列における スピン状態選択的磁化移動